MEMORIAS
DO
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Tomo 31 Anno—1936 Fasciculo 3

# Contribuição ao conhecimento dos Mallophagos encontrados nos mammiferos sul-americanos *

por

Fabio Leoni Werneck

(Com 227 figuras no texto e 1 estampa)

Ha algum tempo, desde os meiados de 1931, nos decidimos a estudar os mallophagos dos mammiferos sul-americanos, cujo conhecimento nos parecia deficiente. Mas, apezar dos esforços continuamente dispendidos, não nos foi possivel realizar integralmente quanto haviamos projectado. Nestas condições, o estudo de tão importante grupo de parasitos foi apenas adeantado e permanece ainda promissor aos que dispuzerem dos recursos que nos faltaram.

Ao iniciar o trabalho tinhamos em vista, não só verificar a exactidão das publicações anteriores, estudando convenientemente as especies validas e supprimindo as provadamente nullas, como ampliar o acervo registrado, contribuindo com apreciavel fracção para o conhecimento do referido grupo de parasitos.

Temos a convicção que a primeira parte deste programma foi quasi totalmente realisada, graças ao auxilio inestimavel d'aquelles que, dotados de uma comprehensão superior dos interesses scientificos, attenderam amavelmente ás nossas solicitações. O Snr. Prof. A. Martin, da Escola Nacional de Veterinaria de Toulouse, enviou-nos todos os ty-

* Recebido para publicação a 7 de Abril de 1936 e dado a publicidade em Agosto de 1936.

pos de Neumann, cujo exame se tornava indispensavel. O Snr. Gordon B. Thompson, do Museu Britannico, proporcionou-nos facilidade igual em relação aos typos de Piaget e Cummings, além de outras informações do mais alto valôr. O Snr. Henry Ellsworth Ewing, do Museu Nacional dos Estados Unidos, teve a gentileza de comparar aos typos de suas especies exemplares por nós determinados, augmentando assim consideravelmente o valôr do material de que nos servimos para redescrevel-as.

Aqui lhes deixamos consignado nosso cordeal agradecimento.

Entretanto, malgrado esta preciosa collaboração, algumas questões, felizmente em numero insignificante, não puderam ser resolvidas. Tambem certas especies não foram redescriptas, como se impunha, pela impossibilidade de conseguirmos o material norte-americano indispensavel e de examinarmos os typos existentes no Museu de Washington.

A difficuldade de colleccionar material impediu-nos de realisar satisfactoriamente a segunda parte de nosso programma. É certo que descrevemos um numero de especies novas relativamente grande, si o compararmos ao das até então conhecidas. Tudo leva a suppor entretanto que maior é o numero das ainda ignoradas, porque só nos foi possivel examinar pequena parcella de mammiferos da fauna sul-americana. A deficiencia de nossas pesquizas é tanto mais sensivel quanto se torna necessario revistar grande numero de individuos de uma dada especie hospedadora para possuir todos seus parasitos.

Para a modesta contribuição que aqui trazemos em pról do conhecimento mais vasto e mais perfeito dos ectoparasitos de nossa fauna, collaboraram efficazmente muitos amigos, a quem hypothecamos nossa gratidão e pedimos desculpas si acaso a tarefa realizada não correspondeu a seus esforços. Menção especial merece o Dr. Salvador Mazza, chefe da Missão de Estudos de Pathologia Regional Argentina da Universidade de Buenos Aires, que incansavelmente reuniu e generosamente nos cedeu material tão abundante quanto precioso. Salientamos ainda os nomes dos Profs. E. Roquette Pinto e A. de Miranda Ribeiro, aquelle director e este chefe da Secção de Vertebrados do Museu Nacional do Rio de Janeiro, que nos permittiram examinar as pelles das collecções alli existentes; o do Prof. A. da Costa Lima, de quem fomos discipulo e em cujo laboratorio iniciamos nossas pesquizas; o dos Profs. Lauro Travassos e Cesar Pinto, a quem devemos ensinamentos e auxilios.

No presente trabalho, além de fornecer todos os dados que pudemos reunir no interesse dos especialistas, procuramos dispôr a ma-

teria de modo a facilitar aos não especializados a classificação dos parasitos até hoje assignalados em mammiferos sul-americanos. Das especies de que já nos occupamos em publicações anteriores e das de que não obtivemos exemplar, indicamos apenas a bibliographia e alguma informação por ventura julgada de utilidade. Convimos que seria mais commodo para os que deste trabalho vierem a se servir, reproduzissemos suas descripções e desenhos. Isto aggravaria porém o trabalho de impressão e augmentaria muito o numero de paginas e só se justificaria em publicação, cuja serventia pudesse ser, presumidamente, mais duradoura. Preferimos incluir, como de maior proveito, o estudo das especies parasitas de mammiferos domesticos, que, não pertençam embora á fauna sul-americana, são as mais correntemente apresentadas á determinação.

Convencidos da utilidade das figuras num trabalho desta natureza, desenhamos todas as especies e detalhes de importancia, tão bem quanto nos permittiu nossa evidente falta de habilidade.

As dimensões assignaladas no inicio de cada descripção representam, na realidade, o comprimento do exemplar desenhado; dada a variação individual, indicam apenas uma ordem de grandeza.

Usamos, no texto, o nome dos hospedadores adoptados nos trabalhos originaes e os indicados pelos especialistas para os portadores de nosso material, não nos sentindo com autoridade para modifical-os.

## CHAVE PARA A DETERMINAÇÃO DAS FAMILIAS DA ORDEM MALLOPHAGA, INCLUIDAS NESTE TRABALHO.

| | | |
|---|---|---|
| 1 | Antennas formadas por segmentos inteiramente differentes e com a extremidade distal dilatada. Com seios antennaes e palpos maxillares (Subordem *Amblycera*) | 2 |
| 1' | Segmentos antennaes do mesmo typo; cylindricos. Antennas com a extremidade livre não dilatada. Seios antennaes e palpos maxillares ausentes (Subordem *Ischnocera*) | *Trichodectidae* |
| 2 (1) | Tarsos dos membros medianos e posteriores com uma unha ou sem unha | *Gyropidae* |
| 2' | Tarsos dos membros medianos e posteriores com 2 unhas | 3 |
| 3 (2') | Pro e mesothorax reunidos num só segmento thoracico. Cinco pares de estigmas respiratorios abdominaes. Olhos ausentes | *Trimenoponidae* |
| 3' | Prothorax nitidamente separado do mesothorax. Seis pares de estigmas respiratorios abdominaes. Olhos presentes | *Boopidae* |

## Familia **Gyropidae** Kellogg

1896 — *Gyropidae*, Kellogg, New Mallophaga, part I, pag. 60.
1908 — *Gyropidae*, Kellogg, Genera Insectorum, fasc. 66, Mallophaga, pag. 52.
1916 — *Gyropidae*, Harrison, Parasitology, vol. 9, pag. 31.

DIAGNOSE: — Mallophaga *Amblycera*, isto é, com palpos maxillares e antennas formadas por segmentos de diversas formas, apresentando sempre a extremidade livre fortemente dilatada. Estes orgãos podem se recolher em cavidades existentes nas margens lateraes da cabeça, conhecidas pela denominação de seios antennaes. Palpos labiaes com um articulo. Olhos ausentes. Os tarsos apresentam geralmente uma só unha ou, em logar desta, um pequeno orgão, delicado, destinado a fixação; comtudo os dos membros anteriores podem apresentar duas. As unhas dos membros medianos e dos posteriores são commumente muito reduzidas; nestes casos, o segundo segmento tarsal se apresenta muito desenvolvido e provido de estrias transversaes, unciforme.

DIVISÃO GENERICA: — No presente trabalho dividimos a familia *Gyropidae* em seis generos — *Monothoracius*, *Gliricola*, *Pitrufquenia*, *Protogyropus*, *Gyropus* e *Macrogyropus* — cujos caracteristicos serão enumerados mais adeante, quando delles nos occuparmos. Alguns generos propostos para a familia não foram tomados em consideração, por motivos varios:

*Paragliricola*, *Tetragyropus* e *Heterogyropus* em vista dos caracteres de insignificante valôr em que foram baseados.

*Allogyropus* pelo mesmo motivo e, principalmente, pela ausencia de especies com os caracteres que lhe foram attribuidos. Das tres com que foi formado, as primeiras pertencem a dois outros generos do mesmo autor e a ultima é synonyma da especie typo dum terceiro genero, por elle tambem admittido.

Finalmente, o genero *Monogyropus*, que em rigôr poderia ser aceito, porque especies ha (*Gyropus forficulatus*, por exemplo) que representam visivelmente formas de transição que muito o approximam do genero *Gyropus*.

### CHAVE PARA DETERMINAÇÃO DOS GENEROS DA FAMILIA *GYROPIDAE*

| | | |
|---|---|---|
| 1 | Palpos maxillares formados por tres articulos. Tarsos de todos os membros normaes e com uma unica unha, normal tambem | *Protogyropus* |

| | | |
|---|---|---|
| 1' | Palpos maxillares formados por dois ou quatro articulos Membros, pelo menos os de um par, profundamente modificados: as vezes com um delicado orgão de fixação em substituição as unhas ou, então, com estas muito reduzidas. Neste ultimo caso, o 2.º segmento tarsal é muito desenvolvido e transversalmente estriado e o femur apresenta sulco identico na extremidade proximal | 2 |
| 2 (1') | Sem unhas e em logar destas um pequeno orgão de fixação. Com 5 pares de estigmas respiratorios abdominaes | 3 |
| 2' | Membros anteriores com unhas normaes. Membros medianos ou posteriores com unha muito reduzida e 2.º segmento tarsal estriado. Com 6 pares de estigmas respiratorios abdominaes | 5 |
| 3 (2) | Palpos maxillares com 4 articulos. Segmentos thoracicos reunidos num só bloco. Todos os membros eguaes | *Monothoracius* |
| 3' | Palpos maxillares com dois articulos. Prothorax nitidamente separado dos demais segmentos thoracicos | 4 |
| 4 (3') | Meso e metathorax reunidos, formando um pterothorax. Membros medianos e posteriores eguaes. Especies delgadas e com pequenos pellos | *Gliricola* |
| 4' | Meso e metathorax nitidamente separados. Membros medianos e posteriores differentes. Especies robustas e ornadas de cerdas longas | *Pitrufquenia* |
| 5 (2') | Tarsos dos membros do 1.º par com uma unha | *Gyropus* |
| 5' | Tarsos dos membros do 1.º par com duas unhas | *Macrogyropus* |

Distribuição: — Quasi todos os *Gyropidae* são parasitos de roedores, representados principalmente pelas familias *Caviidae* e *Octodontidae*. A occorrencia desses parasitos em hospedadores de outras ordens só está devidamente verificada em diversos porcos selvagens sulamericanos.

A familia é estrictamente peculiar á região neotropica, tendo sido assignalada de Nicaragua ao Estreito de Magalhães.

## Genero **Monothoracius** Werneck

1934 — *Monothoracius*, Werneck, Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, vol. 28, pag. 174.

Diagnose: — Mallophaga da familia *Gyropidae*, com palpos maxillares de quatro articulos e antennas dilatadas nas extremidades dis-

taes, apresentando os segmentos thoracicos reunidos e formando como que um só bloco. Todos os membros dum unico typo, desprovidos de unhas tarsaes. Abdomen com cinco pares de estigmas respiratorios. Especies delgadas.

ESPECIE TYPO: — *Monothoracius penidoi* Werneck.

### 1. **Monothoracius penidoi** Werneck

1934 — *Monothoracius penidoi,* Werneck, Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, vol. 28, pags. 174-176, figs. 11-14.
1934 — *Monothoracius penidoi,* Werneck, Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, vol. 28, pag. 277, figs. 1-2.

HOSPEDADOR TYPO: — *Kerodon rupestris*, de Lassance, Est. de Minas Geraes, Brasil.

ESPECIMENS EXAMINADOS: — Os do lote typo e varios outros encontrados no mesmo hospedador e localidade.

## Genero **Gliricola** Mjöberg.

1842 — *Micropus,* Denny, Monographia Anoplurorum Britanniae, pag. 247 (*nec* Meyer & Wolf, 1810).
1910 — *Gliricola,* Mjöberg, Zool. Anz., vol. 35, pag. 292.
1910 — *Gliricola,* Mjöberg, Arkiv för Zoologi, vol. 6, n.º 13, pags. 18-19.
1915 — *Gliricola,* Kellogg & Ferris, The Anoplura and Mallophaga of North American Mammals, pag. 66.
1924 — *Gliricola,* Ewing, Proc. of the U. S. Nat. Museum, vol. 63, art. 20, pags. 31-32.
1924 — *Paragliricola,* Ewing, Proc. of the U. S. Nat. Museum, vol. 63, art. 20, pag. 29.
1932 — *Micropus,* Bagnall, Vasculum, vol. 18, pag. 18.

DIAGNOSE: — Mallophaga da familia *Gyropidae* com palpos maxillares de dois articulos e antennas dilatadas nas extremidades distaes. Prothorax distincto dos demais segmentos thoracicos, que, reunidos, formam um só todo ou pterothorax. Membros desprovidos de unhas tarsaes, sendo os dos ultimos pares iguaes entre si e differentes dos do primeiro par. Abdomen com cinco pares de estigmas respiratorios. Especies delgadas.

ESPECIE TYPO: — *Gliricola porcelli* (Lin.).

## 1. **Gliricola porcelli** (Linnaeus)

1758 — *Pediculus porcelli,* Linnaeus, Systema naturae, 10.ª ed., tomo 1, pag. 611.
1781 — *Pediculus porcelli,* Schrank, Enumeratio Insectorum Austriae Indigenorum, pag. 500, pl. 1, fig. 1.
1803 — *Pediculus saviae,* Schrank, Fauna Boica, pag. 186.
1816 — *Pediculus bifurcatus,* Olfers, De vegetativis et animatis corporibus in corporibus animatis referiundis commentarius, pag. 83
1818 — *Gyropus gracilis,* Nitzsch, Magazin der Entomologie de Germar, vol. 3, pag. 304.
1838 — *Gyropus gracilis,* Burmeister, Handbuch der Entomologie, vol. 2, pag. 443.
1842 — *Gyropus gracilis,* Denny, Monographia Anoplurorum Britanniae, pag. 204 e pags. 246-247, pl. 24, fig. 2.
1844 — *Gyropus gracilis,* Gervais, Histoire Naturelle des Insectes de Walkenaer, Aptères, vol. 3, pag. 316, pl. 48, fig. 5.
1857 — *Gyropus gracilis,* Gurlt, Archiv für Naturgeschichte, vol. 23, pag. 279.
1861 — *Gyropus gracilis,* Giebel, Zeitschrift f. ges. Naturwiss., vol. 18, pag. 92, pl. 2, figs. 10 e 11
1874 — *Gyropus gracilis,* Giebel, Insecta Epizoa, pag. 247.
1878 — *Gyropus gracilis,* Gurlt, Archiv für Naturgeschichte, vol. 44, pag. 165.
1880 — *Gyropus gracilis,* Piaget, Les Pediculines, pags. 611-612, pl. 50, fig. 6.
1892 — *Gyropus gracilis,* Neumann, Traité des Maladies Parasitaires des Animaux Domestiques, 2.ª ed., pag. 71, fig. 41.
1895 — *Gyropus porcelli,* Railliet, Traité de Zoologie Medicale et Agricole, 2.ª ed., pag. 845.
1896 — *Gyropus gracilis,* Osborn, Bul. 5, n. s., Div. of Entomology, U. S. Dept. of Agriculture, pags. 215 e 249, fig. 139.
1900 — *Gyropus gracilis,* Kellogg, Proc. of the U. S. Nat. Museum, vol. 22, pag. 79.
1908 — *Gyropus gracilis,* Kellogg, Genera Insectorum, fasc. 66, pag. 52.
1910 — *Gliricola gracilis,* Mjöberg, Arkiv för Zoologi, vol. 6, n.º 13, pags. 20 e 238-239, figs. 4 á 8, e 129.
1912 — *Gyropus porcelli,* Neumann, Bulletin de la Société Zoologique de France, vol. 37, pags. 213-216, figs. 1 e 2.
1912 — *Gyropus porcelli perfoliatus,* Neumann, Bulletin de la Société Zoologique de France, vol. 37, pag. 216
1912 — *Gyropus bicaudatus,* Paine, Entomological News, vol. 23, pag. 441, pl. 20, fig. 3.
1912 — *Gyropus gracilis,* Paine, Entomological News, vol. 23, pag. 441.
1913 — *Gliricola porcelli,* Johnston & Harrison, Proc. of the Royal Soc. of Queensland, vol. 24, pag. 22.
1914 — *Gliricola porcelli,* Stobbe, Deutsche Entologische Zeitschrift, pag. 177.
1915 — *Gliricola porcelli,* Kellogg & Ferris, The Anoplura and Mallophaga of North American Mammals, Leland Stanford Junior University Publications, University Series, pag. 66.
1916 — *Gliricola perfoliata,* Harrison, Parasitology, vol. 9, pag. 32.
1916 — *Gliricola porcelli,* Harrison, Parasitology, vol. 9, pag. 32.
1924 — *Gliricola porcelli,* Ewing, Proc. of the U. S. Nat. Museum, vol. 63, art. 20, pags. 33-34, figs. 15 e 17, pl. 1, fig. 8.

1924 — *Gyropus porcelli*, Seguy, Les Insectes Parasites de l'Homme et des Animaux Domestiques, pag. 65-66, figs. 55 e 56.

1934 — *Gyropus gracilis*, Galliard, Comptes Rendus Hebd. et Mem. de la Société de Biologie, vol. 116, pag. 1316, fig. D.

HOSPEDADOR TYPO: — *Mure porcello* Lin.

HOSPEDADORES OUTROS: — Quasi todos os autores assignalaram esta especie na cobaia domestica. Neumann a encontrou em *Kerodon rupestris* Fr. Cuv. (Pará, Brasil), descrevendo os exemplares colhidos como nova

Fig. 1 — *Gliricola porcelli*, femea.

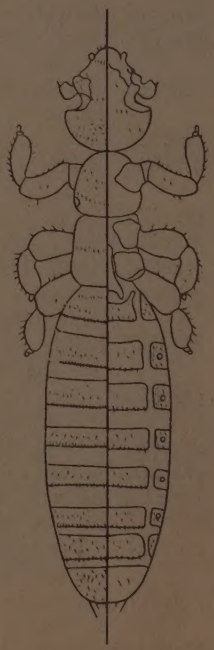


Fig. 2 — *Gliricola porcelli*, macho.

subespecie. Paine julgou pertencerem a uma nova especie individuos encontrados em *Cavia cutleri*, originaria do Perú. Stobbe indicou a *Cavia aperea* como hospedador e Ewing assignalou mais tres outros: *Cavia tschudii* de La Raya, Perú, *Cavia rufescens* e *Cavia tschudii pallidior*, este ultimo pertencente ao Jardim Zoologico de Washington e originario de Arequipa, Perú.

ESPECIMENS EXAMINADOS: — Grande numero de exemplares, de ambos os sexos, colhidos na cobaia domestica, em *Cavia porcellus* de diver-

sas localidades do Brasil, em *Lepus brasiliensis* de Belfort Roxo, Est. do Rio de Janeiro, e em *Metachirops opossum* de Petropolis, Est. do Rio de Janeiro, Brasil.

Dada a gentileza do Prof. A. Martin, da Esc. Nac. Veterinaria de Toulouse, tivemos a opportunidade de examinar, ainda, tres femeas e tres machos do lote typo de *Gyropus porcelli perfoliatus* Neumann.

DESCRIPÇÃO: —Femea (fig. 1). Comprimento: 1.21 mm.

Cabeça (fig. 3) mais longa do que larga. Seio antennal pequeno e pouco profundo. Temporas salientes. Na face inferior notam-se as projecções lateraes da hypopharynge com as extremidades denteadas, como se acha representado na fig. 4.

Thorax muito mais comprido e pouco mais estreito que a cabeça. Prothorax arredondado e tão longo quanto os demais segmentos thoracicos reunidos. Meso e metathorax fundidos num só bloco de fórma cylindrica. Na face inferior, dada a ausencia da placa esternal do prothorax, encontra-se sómente uma placa resultante da fusão das dos outros segmentos, com o aspecto representado na fig. 5. Membros sem nada de particular.

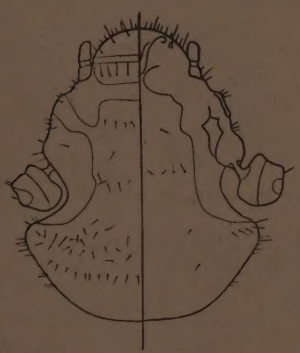


Fig. 3 — *Gliricola porcelli*, cabeça da femea.

Fig. 4 — *Gliricola porcelli*, hypopharynge.

Fig. 5 — *Gliricola porcelli*, placas esternaes.

Abdomen longo e estreito, tendo em todos os segmentos typicos placas bem pigmentadas nos tergitos, pleuritos e esternitos, em cujas margens posteriores se estendem carreiras regulares de pequenos pellos. Além destes, estas mesmas placas apresentam outros, ligeiramente maiores e irregularmente dispostos. Nas margens lateraes do abdomen se encontra uma unica cerda, de cada lado, no ultimo pleurito e na extremidade posterior duas cerdas fortes implantadas em pequenas saliencias do tegumento, ligeiramente convergentes. Nos angulos posteriores da ultima placa pigmentada da face ventral ha uma formação curiosa, em ponta, revestida de escamas e com um pequeno pello na extremidade.

A genitalia é bastante complexa e difficilmente poderia ser descripta convenientemente. Esta circumstancia, accrescida da necessidade de seu perfeito conhecimento para a caracterisação da especie, nos levou a publicar os desenhos reproduzidos nas figs 6 e 7. O primeiro representa o que nos foi

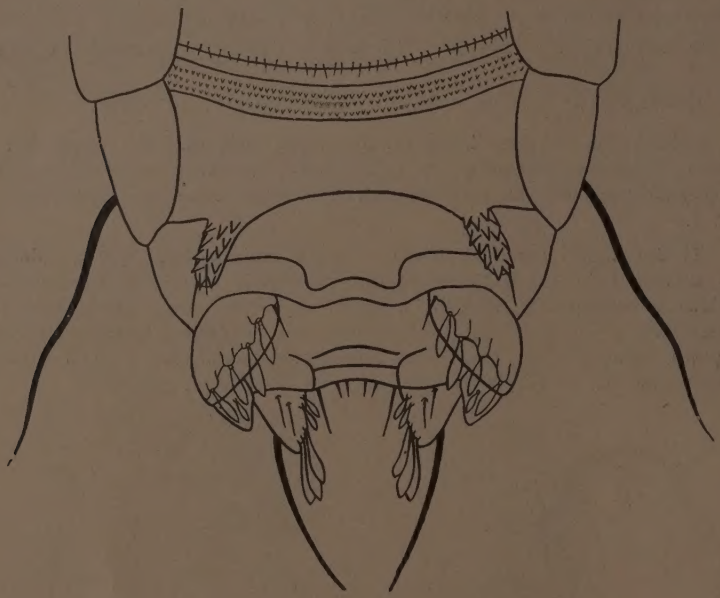


Fig. 6 — *Gliricola porcelli*, genitalia da femea (em especimens frescos)

Fig. 7 — *Gliricola porcelli*, genitalia da femea (em especimens montados).

possivel observar em especimens frescos, não transparentes, e o segundo o aspecto verificado em exemplares montados após tratamento pela potassa caustica e coloração.

Macho (fig. 2). Comprimento: 1.00 mm.

Muito semelhante á femea, não apresentando, porém, as cerdas compridas dos ultimos pleuritos.

Genitalia (figs. 8 e 9) formada de placa basal estreita, com dois longos ramos terminaes, e de parameros pequenos e não encurvados.

Fig. 8 — *Gliricola porcelli*, genitalia do macho (em repouso)

Fig. 9 — *Gliricola porcelli*, genitalia do macho (distendida).

Nota: — A *Gliricola porcelli*, especie typo do genero, embora conhecida ha muito tempo, só em 1912 foi bem caracterizada no trabalho publicado por Neumann, pois que todos os outros autores que anteriormente della se occuparam, fizeram-no de modo tal que suas descripções e desenhos podem ser attribuidos a maioria das especies do genero. A identificação de Neumann se baseia no facto de ser esta especie a frequentemente encontrada na cobaia e deve ser aceita sem reluctancia.

As especies referidas por Schrank, Olfers e Nitzsch, ainda que com nomes diversos, são certamente identicas a de Linnaeus, tendo sido obtidas do mesmo hospedador.

Quanto a subespecie de Neumann, ou especie — *Gliricola perfoliata*

— como a consideram outros autores, não temos a menor duvida em consideral-a nulla, após o exame que tivemos a opportunidade de fazer em seis especimens de seu lote typo.

Resta-nos referir o *Gyropus bicaudatus*, considerado identico a especie de Linnaeus em vista do parecer de Ewing que poude examinar exemplares determinados por Paine, existentes no Museu de Washington e que, provavelmente, pertencem ao lote typo, tendo sido colhidos sobre o mesmo hospedador, pelo mesmo colleccionador, na mesma localidade. Antes, porém, desta verificação, a especie já fôra repudiada por varios autores de accôrdo com as proprias indicações fornecidas em sua descripção original.

## 2. **Gliricola decurtatus** (Neumann)

1912 — *Gyropus decurtatus,* Neumann, Bulletin de la Société Zoologique de France, vol. 37, pags. 216-218, fig. 3.
1916 — *Gyropus decurtatus,* Harrison, Parasitology, vol. 9, pag. 31.
1924 — *Gyropus decuratus* (sic), Ewing, Proc. of the U. S. Nat. Museum, vol. 63 art. 20, pags. 32 e 42.
1924 — *Gliricola decuratus* (sic), Ewing, Proc. of the U. S. Nat. Museum, vol. 63, art. 20, pag. 40.

Hospedador typo: — *Dactylomys amblyonyx*, originario do Brasil.

Especimens examinados: — Todo o lote typo, constituido por dois machos, duas femeas e uma forma joven, montados em uma unica lamina que nos foi gentilmente enviada para exame pelo Prof. A. Martin, da Esc. Nac. Veterinaria de Toulouse.

Grande numero de exemplares, dos dois sexos, encontrados repetidamente em *Dactylomys amblyonyx* de Angra dos Reis e Therezopolis e em *Echimys cayenensis* de Angra dos Reis. Ambas as localidades acima referidas pertencem ao Est. do Rio de Janeiro, Brasil.

Descripção: — Femea (fig. 10). Comprimento: 1.00 mm.

Cabeça mais longa do que larga. Seio antennal pequeno e pouco profundo. Temporas ligeiramente salientes. As porções lateraes da hypopharynge, bem visiveis na face inferior da cabeça, são desprovidas de dentes chitinosos.

Thorax mais longo e apenas mais largo que a cabeça. Prothorax arredondado. Meso e metathorax de fórma subcylindrica. Na face ventral se encontram as placas esternaes correspondentes aos tres segmentos thoracicos; a anterior subpentagonal e as outras duas, reunidas, com a fórma representada na fig. 12. Membros sem nada de particular.

Abdomen longo e estreito, com placas pigmentadas nos tergitos, ester-

nitos e pleuritos, em cujas margens posteriores se encontram filas de cerdas pequenas. As margens lateraes apresentam um pello longo no primeiro e no ultimo pleurito e a extremidade posterior, de cada lado, tres cerdas, tambem longas.

A genitalia é formada de gonopodos grandes, salientes na extremidade posterior do abdomen, em fórma de concha, com seis ou oito cerdas, divididas em dois grupos, um na borda inferior e outro na superior. Na fig. 13,

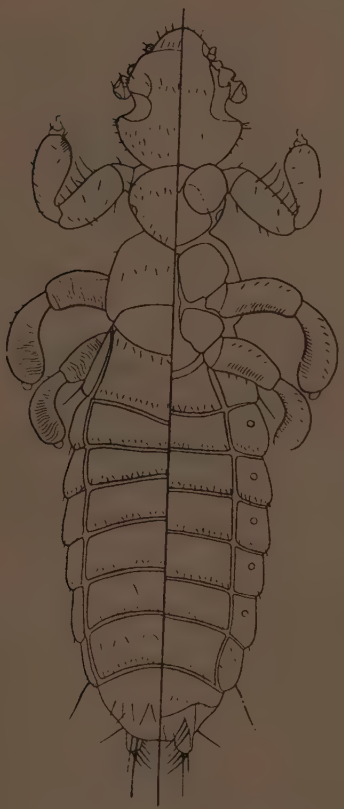


Fig. 10 — *Gliricola decurtatus*, femea.

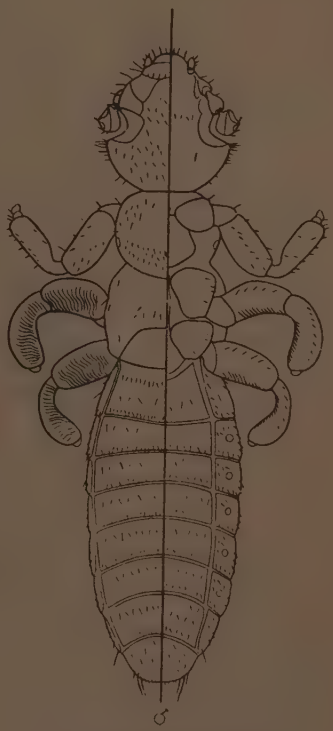


Fig. 11 — *Gliricola decurtatus*, macho.

representamos a genitalia tal como se apresenta nos especimens tratados pela potassa e corados e na fig. 14 com o aspecto observado nos exemplares frescos ou simplesmente montados em balsamo; a differença deve ser attribuida principalmente á posição em que as cerdas espatuladas são observadas.

Macho (fig. 11). Comprimento: 0.78 mm.

O macho, como succede nas demais especies do genero, se assemelha muito á femea, da qual se distingue pelo encurtamento do abdomen, do que resulta differença notavel de proporções.

Fig. 12 — *Glricola decurtatus*, placas esternaes.

Fig. 13 — *Glricola decurtatus*, genitalia da femea (em exemplares montados).

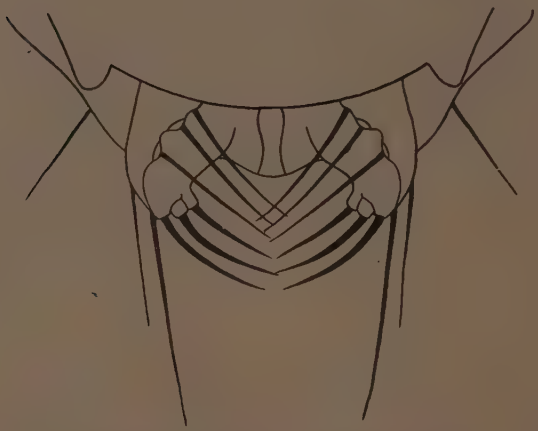


Fig. 14 — *Glricola decurtatus*, genitalia da femea (em exemplares frescos).

Os esternitos, pleuritos e tergitos teem além da carreira regular de pellos curtos, ao longo das margens posteriores, uma outra irregular, de pellos mais longos e menos numerosos.

Genitalia (fig. 15) formada de placa basal dividida em dois longos ramos terminaes, onde se articulam parameros curtos e fortes.

Fig. 15 — *Gliricola decurtatus*, genitalia do macho.

NOTA: — Não remontamos os especimens do lote typo, mas, apezar da má qualidade de sua montagem, pudemos comparal-os, de modo satisfactorio, com nosso material e nos certificar da exactidão das determinações que fizeramos.

### 3. **Gliricola fonsecai** Werneck

1933 — *Gliricola fonsecai*, Werneck, Revista Medico-Cirurgica do Brasil, anno 41, n.º 3, pag. 86, figs. 1-2.
1933 — *Gliricola fonsecai*, Werneck, Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, vol. 27, pags. 147-151, figs. 1-11.
1934 — *Gliricola fonsecai*, Werneck, Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, vol. 28, pag. 167.

HOSPEDADOR TYPO: — *Nelomys* sp., de Butantan, São Paulo, Brasil.

ESPECIMENS EXAMINADOS: — Os do lote typo, formado por 14 femeas e 6 machos, e mais 5 femeas e 3 machos colhidos em ratos igual ao hospedador typo, capturado no mesmo local. Todo o material examinado nos foi fornecido, amavelmente, pelo Dr. Flavio da Fonseca, do Instituto de Butantan.

### 4. **Gliricola echimydis** Werneck

1933 — *Gliricola echimydis*, Werneck, Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, vol. 27, pags. 344-348, figs. 1-8.

1934 — *Gliricola echimydis*, Werneck, Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, vol. 28, pag. 168.

HOSPEDADOR TYPO: — *Echimys cayennensis*, de Angra dos Reis, Est. do Rio de Janeiro, Brasil.

ESPECIMENS EXAMINADOS: — Além dos exemplares do lote typo, examinamos muitos outros colhidos em *Proechimys albispinus*, capturado no Corcovado, Rio de Janeiro, Brasil.

NOTA: — As genitalias dos machos de *G. porcelli*, *G. decurtatus*, *G. fonsecai* e *G. echimydis*, pertencem indubitavelmente a um mesmo typo; as da segunda e terceira destas especies são muito parecidas, embora differentes na forma dos parameros. Outros caracteres, fornecidos pelas regiões genitaes das femeas e chaetotaxia, permittem tambem reconhecer qualquer das especies acima citadas.

### 5. **Gliricola quadrisetosa** (Ewing).

1924 — *Paragliricola quadrisetosa*, Ewing, Proc. of the U. S. Nat. Museum, vol. 63, art. 20, pags. 30-31, figs. 13-14, pl. 1, fig. 7.

HOSPEDADOR TYPO: — *Cavia tschudii*, de La Raya, Perú.

HOSPEDADORES OUTROS: — Ewing assignalou, ainda, a especie em *Kerodon spixii* (de Lamaras, Bahia, Brasil) e em *Cavia* sp. (de Guamini, Buenos-Aires, Rep. Argentina), que, segundo informação recebida de Dr. Doris Cochran, do Museu de Washington, foi posteriormente determinada como *Galea boliviensis littoralis*.

ESPECIMENS EXAMINADOS: — Grande numero de exemplares colhidos em *Cavia porcellus* (de Tapéra, Pernambuco, Brasil), por D. Bento Pickel, dos quaes enviamos uma femea a Ewing que se prestou, muito gentilmente, a comparal-a ao typo existente no U. S. Nat. Museum, confirmando nossa determinação. Examinamos, ainda, innumeros exemplares de ambos os sexos, encontrados em *Galea leucoblephara*, capturadas em diversas localidades da Prov. de Jujuy, Rep. Argentina, por Dr. Salvador Mazza.

DESCRIPÇÃO: — Femea (fig. 16). Comprimento: 1.25 mm.

Cabeça mais longa do que larga. Seio antennal pequeno e razo. Temporas salientes. Na face inferior da cabeça notam-se as porções lateraes da hypopharynge desprovidas de dentes chitinosos.

Fig. 16 — *Gliricola quadrisetosa*, femea.

Fig. 17 — *Gliricola quadrisetosa*, macho

Fig. 18 — *Gliricola quadrisetosa*, placas esternaes.

Thorax mais comprido e da mesma largura que a cabeça. Prothorax arredondado. Meso e metathorax reunidos, formando um só todo ou pterothorax subcylindrico. Na face ventral, as placas esternaes apresentam a fórma representada na fig. 18. Membros sem nada de particular.

Abdomen longo e estreito, com placas pigmentadas nos tergitos, pleuritos e esternitos, tendo nas margens posteriores fileiras regulares de cerdas pequenas; além destes pellos pequenos, acham-se outros maiores, em menor numero, dispostos um tanto irregularmente. Margens lateraes com quatro grandes cerdas implantadas nos angulos posteriores dos segmentos 2 e 3, muito caracteristicas da especie. Na extremidade posterior ha duas cerdas, de cada lado, voltadas para traz, sendo as internas maiores que as externas.

Genitalia (fig. 19) formada de gonopodos grandes, salientes na extremidade posterior do abdomen e com onze cerdas, quasi todas do typo commum.

Macho (fig. 17). Comprimento: 0,88 mm.

Semelhante á femea, tendo entretanto a cabeça mais curta e a extremidade posterior do abdomen mais fina. Nelle não se encontram as quatro longas cerdas das margens abdominaes.

Genitalia (fig. 20) formada de placa basal longa, dividida em dois grandes ramos terminaes e de parameros curtos, largos, tendo as extremidades distaes fortemente encurvadas para fóra.

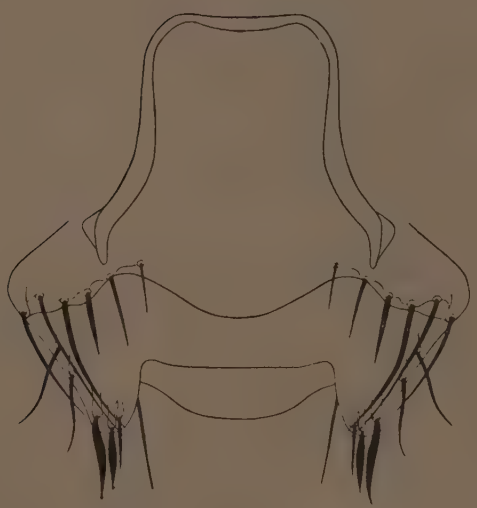


Fig. 19 — *Gliricola quadrisetosa*, genitalia da femea.

Fig. 20 — *Gliricola quadrisetosa*, genitalia do macho.

Nota: — Nosso estudo é baseado em femea, comparada ao typo pelo proprio autor da especie, e em macho colhido na mesma occasião. Este ultimo não fôra ainda encontrado, tendo sido a especie descripta unicamente de exemplares femeas.

### 6. **Gliricola brasiliensis** Werneck

1934 — *Gliricola brasiliensis*, Werneck, Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, vol. 28, pags. 168-170, figs. 1-6.

HOSPEDADOR TYPO: — *Cavia porcellus*, de Pedreiras, Est. de São Paulo, Brasil.

ESPECIMENS EXAMINADOS: — Sómente os do lote typo, ou sejam 4 femeas e 6 machos.

### 7. **Gliricola mesomydis** Werneck

1933 — *Gliricola mesomydis*, Werneck, Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, vol. 27, pags. 339-344, figs. 1-7.
1934 — *Gliricola mesomydis*, Werneck, Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, vol. 28, pag. 167.

HOSPEDADOR TYPO: — *Euryzygomatomys spinosus catellus*, de Butantan, São Paulo, Brasil.

ESPECIMENS EXAMINADOS: — Além dos exemplares do lote typo, examinamos muitos outros colhidos no mesmo hospedador e na mesma localidade, por Dr. Flavio da Fonseca, do Instituto de Butantan.

### 8. **Gliricola pintoi** Werneck

1935 — *Gliricola pintoi*, Werneck, Brasil Medico, anno 49, n.º 27, pag. 597.
1935 — *Gliricola pintoi*, Werneck, Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, vol. 30, pags. 373-377, figs. 1-6.

HOSPEDADOR TYPO: — Desconhecido.

ESPECIMENS EXAMINADOS: — Femea, macho e formas jovens encontrados em pelle de *Hapale santaremensis*, proveniente do Rio Tapajoz, Pará, Brasil.

NOTA: — Não consideramos o *Hapale santaremensis* hospedador desta especie, a menos que pesquizas ulteriores o venham demonstrar, por nos parecer mais provavel a hypothese duma contaminação accidental havida no Museu Nacional do Rio de Janeiro, ao qual pertence a pelle que nos forneceu o material.

### 9. **Gliricola mirandai** Werneck

1935 — *Gliricola mirandai*, Werneck, Brasil Medico, anno 49, n.º 27, pag. 597.
1935 — *Gliricola mirandai*, Werneck, Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, vol. 30, pags. 417-420, figs. 1-6.

HOSPEDADOR TYPO: — *Isothrix bistriatus*, de Porto Bicentenario (Rio Manoel Correia, bacia do Rio São Miguel), Matto-Grosso, Brasil.

ESPECIMENS EXAMINADOS: — Os do lote typo e varios outros encontrados no mesmo hospedador, capturado na Bolivia.

### 10. **Gliricola distincta** Ewing

1924 — *Gliricola distincta*, Ewing, Proceedings of the United States National Museum, vol. 63, art. 20, pags. 32-33, fig. 16.

HOSPEDADOR TYPO: — *Cavia anolaimae*, de Paramo del Santurio, Bocaya, Colombia.

NOTA: — Não nos foi dado examinar exemplar algum desta especie, não nos sendo possivel, portanto, contribuir de qualquer modo para seu conhecimento mais perfeito. Apezar da lastimavel falta de desenhos sufficientes, notada em sua descripção original, somos de parecer que deve ser considerada especie valida.

### 11. **Gliricola longicollis** (Nitzsch).

1838 — *Gyropus longicollis*, Nitzsch, *in* Burmeister, Handbuch der Entomologie, vol. 2, pag. 443.
1844 — *Gyropus longicollis*, Gervais, Histoire Naturelle des Insectes de Walkenaer, Aptères, vol. 3, pag. 317.
1861 — *Gyropus longicollis*, Giebel, Zeitschrift f. ges. Naturwiss., vol. 18, pag. 93.
1874 — *Gyropus longicollis*, Giebel, Insecta Epizoa, pag. 247.
1878 — *Gyropus longicollis*. Gurlt, Archiv für Naturgeschichte, vol. 44, pag. 165
1880 — *Gyropus longicollis*, Piaget, Les Pediculines, pag. 614.
1908 — *Gyropus longicollis*, Kellogg, Genera Insectorum, fasc. 66, pag. 52.
1912 — *Gyropus longicollis*, Neumann, Bulletin de la Société Zoologique de France, vol. 37, pags. 226-227.
1916 — *Gyropus longicollis*, Harrison, Parasitology, vol. 9, pag. 31.
1924 — *Gyropus longicollis*, Ewing, Proc. of the U. S. Nat. Museum, vol. 63, art. 20, pag. 42.

HOSPEDADOR TYPO: — *Dasyprocta aguti*.

NOTA: — Esta especie foi descripta de dois exemplares colhidos em pelle do cotia (*Dasyprocta aguti*), em 1825 por Nitzsch, exemplares estes que não foram encontrados por Giebel entre o material do referido autor e que, portanto, devem ser tidos como perdidos, e, depois disto, não mais

foi encontrada. É certo que no hospedador typo se encontra uma especie da mesma familia — *Gyropus amplexans* — mas, apezar da deficiencia da descripção original, achamos impossivel consideral-o identico á especie de Nitzsch, pelos motivos expostos por Neumann. Da resumida descripção de *Gyropus longicollis* concluimos que deve ser actualmente incluido no genero *Gliricola*. Ewing incluio-o em sua subfamilia *Gliricolinae*, não declarando o genero por falta de dados necessarios relativos ás projecções lateraes da hypopharynge. Entretanto nós, que não adoptamos a divisão generica do referido autor, podemos classifical-a no genero *Gliricola*, pois que a referencia feita ao prothorax exclue a hypothese de pertencer ao genero *Monothoracius*.

Apezar do estudo dos mallophagos de mammiferos se encontrar bastante adeantado e de ser a cotia animal commum, submettido portanto a exames frequentes, não podemos negar a existencia dum *Gliricola* que lhe seja peculiar. Si a verificação de Nitzsch for confirmada, ao parasito caberá o nome suggerido por este autor. Não acreditamos, porém, que isto succeda, attribuindo a origem dos exemplares descriptos á contaminação accidental, sempre possivel em pelles de collecções guardadas de mistura.

## Genero **Pitrufquenia** Marelli

1932 — *Pitrufquenia* Marelli, La Chacra, anno 3, n.º 26, pags. 7-9.

DIAGNOSE: — Mallophaga *Gyropidae*, com palpos maxillares de dois articulos e antennas dilatadas nas extremidades distaes. Segmentos thoracicos nitidamente separados e de formas diversas. Membros desprovidos de unhas tarsaes; os de cada par differindo dos demais. Abdomen com cinco pares de estigmas respiratorios. Especies robustas e ornadas de longas cerdas.

ESPECIE TYPO: — *Pitrufquenia coypus* Marelli.

### 1. **Pitrufquenia coypus** Marelli

1932 — *Pitrufquenia coypus*, Marelli, La Chacra, anno 3, n.º 26, pags. 7-9, figs. 1-6

1933 — *Pitrufquenia coypus*, Marelli, Revista de la Sociedad Entomologica Argentina, n.º 24, vol. 5, pags. 299-303, fig.

1933 — *Pitrufquenia mollis*, Marelli, Revista de la Sociedad Entomologica Argentina, n.º 24, vol. 5, pags. 299-303, fig.

HOSPEDADOR TYPO: — *Myocastor coypus*, de Pitrufquen, Prov. de Conception, Chile.

ESPECIMENS EXAMINADOS: — Cerca de cem exemplares colhidos em *Myocastor coypus*, amavelmente enviados pelos irmãos Bravo, criadores de nutria em Pitrufquen, a quem os solicitamos. Nosso material tem, portanto, a mesma origem do que serviu a Marelli para descripção da especie, proveniente tambem de animaes criados pelos referidos senhores.

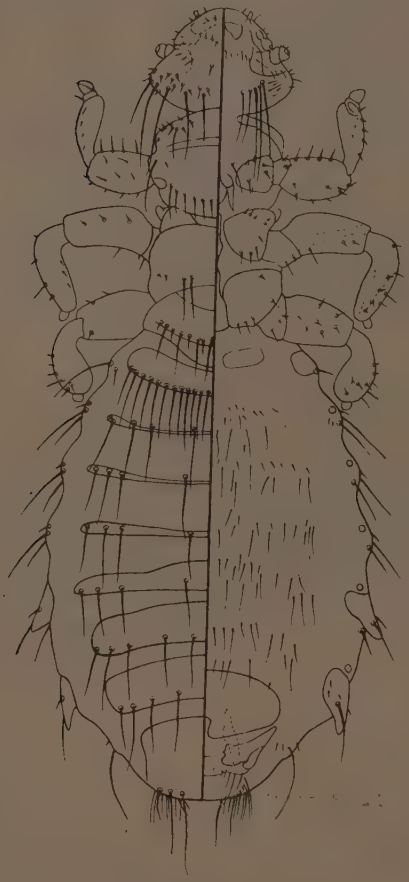


Fig. 21 — *Pitrufquenia coypus*, femea.

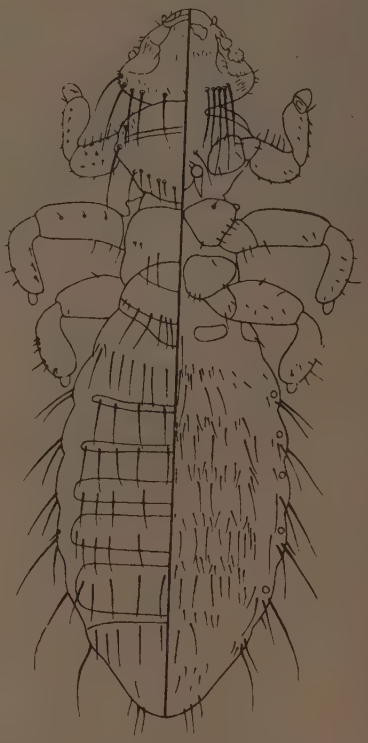


Fig. 22 — *Pitrufquenia coypus*, macho.

DESCRIPÇÃO: — Femea (fig. 21). Comprimento: 2.09 mm.

Cabeça (fig. 23) mais larga do que longa, subtriangular. Temporas sa-

lientes. Palpos maxillares ultrapassando apenas as margens da cabeça. Na face superior se encontra uma carreira de dez grandes cerdas na região occipital, entre as quaes ha cerdas menores, e um grupo de pellos em cada lobulo préantennal. Na inferior, duas filas de cinco cerdas grandes, dispostas symetricamente de cada lado, uma outra transversal, em meio do comprimento da cabeça, formada de pellos pequenos e grupos de cerdas de comprimento mediano nos lobulos temporaes.

Fig. 23 — *Pitrufquenia coypus*, cabeça da femea.

Fig. 24 — *Pitrufquenia coypus*, extremidade dos membros medianos.

Thorax mais longo e mais estreito que a cabeça. Prothorax escutiforme, tendo na face superior numerosos espinhos pequenos, duas cerdas junto ás margens da porção anterior e uma fileira de pellos ao longo do bordo posterior. Mesothorax com quatro cerdas na borda posterior, em grupos de duas cerdas gemeas. Na margem posterior do metathorax ha uma carreira formada de pellos longos e pellos curtos, alternadamente implantados. Na face inferior do thorax encontra-se entre os quadris do primeiro par de membros, uma placa esternal tendo de cada lado uma curiosa formação em cone, de vertice voltado para traz, cuja significação ignoramos. Entre os quadris dos demais membros, se estende uma placa esternal longa e estreita.

Os membros differem de accôrdo com a posição que occupam, differença esta mais sensivel nos do segundo par. Todos elles teem, na extremidade distal, um orgão de estructura delicada. Na fig. 24 representamos o que se encontra nos membros medianos, não o fazendo para os demais em vista da semelhança que apresentam.

Abdomen largo, de margens lateraes fortemente onduladas, tendo na face superior de cada segmento uma placa pigmentada com a borda posterior guarnecida de cerdas. A placa do primeiro segmento é larga, com grande numero de cerdas, e a do segundo muito estreita; a largura das subsequentes cresce a medida que se approximam da extremidade posterior do abdomen. Todas, porém, são muito mais pobres em cerdas que a primeira. Esternitos

mais pillosos, vendo-se ahi pellos de diversas dimensões, cujo comprimento porém não attinge ao das cerdas dos tergitos. Nas margens lateraes se encontram algumas cerdas longas. Os segmentos 5 e 6 possuem verdadeiras placas pleuraes, bem desenvolvidas e pigmentadas, mas de contorno mal delimitado.

Genitalia como se acha representado na fig. 25.

Macho (fig. 22). Comprimento: 1.96 mm.

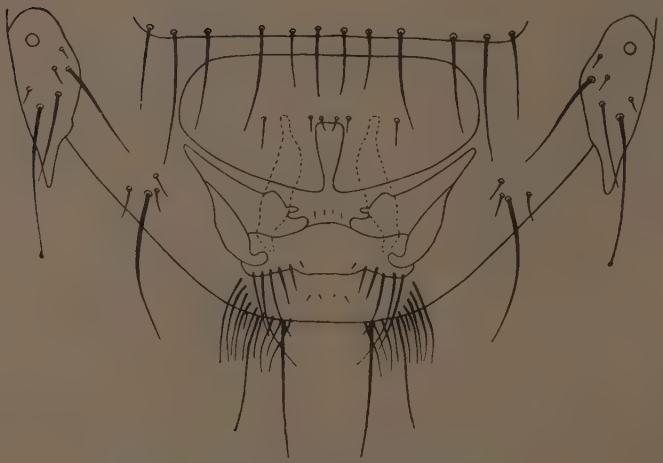


Fig. 25 — *Pitrufquenia coypus*, genitalia da femea.

Fig. 26 — *Pitrufquenia coypus*, genitalia do macho.

Muito semelhante á femea, da qual se distingue pela extremidade posterior do abdomen mais pontuda, pela ausencia das grandes placas dos pleuritos 5 e 6 e pelo maior numero de cerdas nos tergitos.

Genitalia representada na fig. 26.

Nota: — Não nos foi dado examinar cotypos de *Pitrufquenia mollis*, unico meio capaz de nos proporcionar um juizo definitivo quanto á validade desta especie. Entretanto, do estudo de sua descripção original adquirimos a convicção de que deve ser considerada identica á *Pitruf-*

*quenia coypus*, com toda a probabilidade de acerto, embora não nos seja possivel, em rigôr, afastar a hypothese contraria, pois que poderiam ter escapado a seu autor differenças que a legitimassem.

## Genero **Protogyropus** Ewing

1924 — *Protogyropus*, Ewing, Proc. of the U. S. Nat. Museum, vol. 63, art. 20, pag. 7.

DIAGNOSE: — Mallophaga *Gyropidae*, com palpos maxillares de tres articulos e antennas dilatadas nas extremidades distaes. Membros normaes, não adaptados para prender os pellos do hospedador do modo descripto para o genero *Gyropus*, tarsos to typo commum, providos de uma só unha. Especies robustas.

ESPECIE TYPO: — *Protogyropus normalis* Ewing.

### 1. **Protogyropus normalis** Ewing

1924 — *Protogyropus normalis*, Ewing, Proc. of the U. S. Nat. Museum, vol. 63, art. 20, pags. 8-9, figs. 2-3, pl. 1, fig. 1.

HOSPEDADOR TYPO: — *Caviella australis nigriana*, de Gen. Roca, Rio Negro, Argentina. (Segundo informação gentilmente fornecida por Dr. Doris Cochran, obtida no U. S. Nat. Museum e de accôrdo com a indicação contida na descripção original da especie).

HOSPEDADORES OUTROS: — Ewing assignalou este parasito em mais duas pelles pertencentes ao Museu de Washington, procedentes da mesma localidade que o hospedador typo. Dr. Doris Cochran teve a bondade de nos informar que, de accôrdo com os numeros indicados no trabalho daquelle autor, estas pelles são de *Caviella australis nigriana* e de *Akodon arenicola arenicola*.

ESPECIMENS EXAMINADOS: — Numerosos especimens encontrados em diversos exemplares de *Caviella australis*, capturados em Tinogasta, Prov. de Catamarca, Rep. Argentina, dos quaes enviamos femea e macho a Ewing, que os comparou aos typos, confirmando nossa determinação.

DESCRIPÇÃO: — Femea (fig. 27). Comprimento: 1.03 mm.

Cabeça (fig. 29) mais larga do que longa, apresentando em seus bordos lateraes fortes reentrancias ao nivel dos palpos maxillares e das lojas antennaes. Temporas salientes. Em ambas as faces ha numerosos pellos, dos

quaes os maiores se acham na face superior, ao longo da margem occipital. Antennas grandes e palpos maxillares pequenos, implantados junto as margens da cabeça.

Prothorax largo, embora ligeiramente mais estreito que a cabeça, e curto, com as extremidades lateraes fortemente salientes. Meso e metathorax formando, reunidos, um conjuncto trapeziforme. Na face superior dos tres segmentos tho-

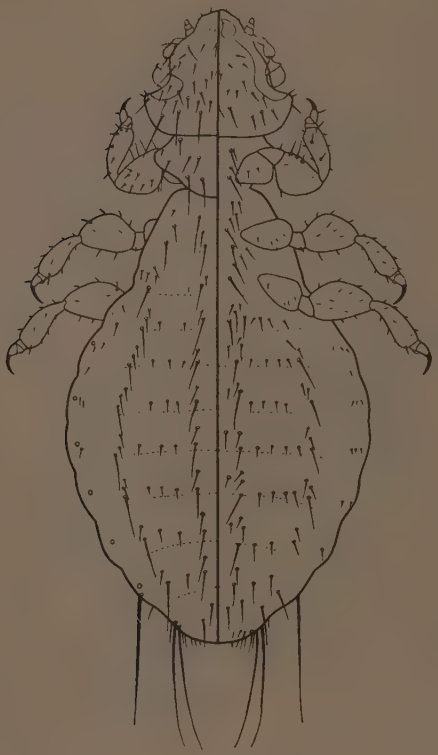


Fig. 27 — *Protogyropus normalis*, femea.

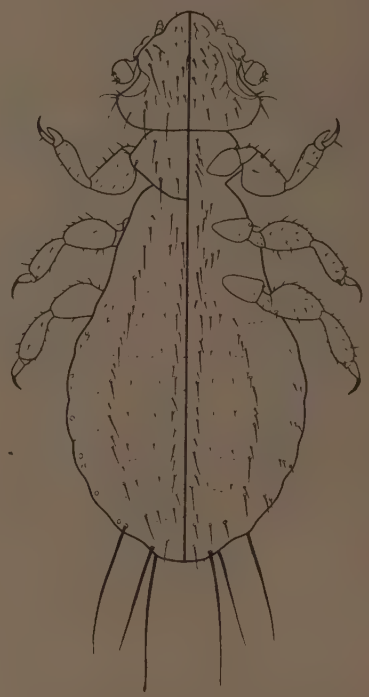


Fig. 28 — *Protogyropus normalis*, macho.

racicos encontram-se muitos pellos; no prothorax, os maiores se acham ao longo da margem posterior e os do meso e metathorax, formam fileiras longitudinaes, em prolongamento das que se encontram no abdomen. Na face inferior, os pellos delimitam as placas esternaes, cujos bordos não são perceptiveis.

Os membros thoracicos (fig. 30) não se apresentam modificados, sendo providos de dois segmentos tarsaes e de unhas do typo commum.

Abdomen ovoide, de margens ligeiramente onduladas. A disposição dos pellos que ahi se encontram, identica em ambas as faces, é muito curiosa e caracteristica, menos pelas quatro fileiras longitudinaes em que se dispõem do que pela formação typica que estas apresentam. As duas filas submedianas são formadas de duas cerdas por segmento abdominal, a anterior menor que a posterior, enquanto que as marginaes teem, nas mesmas condições, tres cerdas cujos comprimentos augmentam, gradativamente, da primeira a ultima. Além destes pellos, encontram-se, ainda, alguns outros menores dispostos ao longo da borda posterior dos segmentos abdominaes typicos e seis longas cerdas nas margens lateraes, junto a extremidade posterior do abdomen.

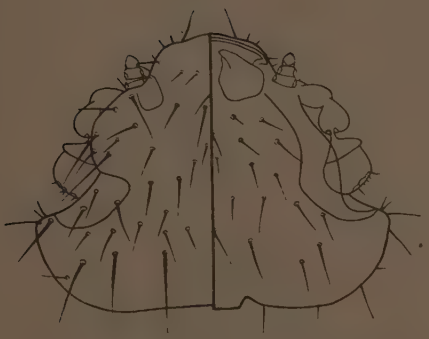


Fig. 29 — *Protogyropus normalis*, cabeça da femea.

Fig. 31 — *Protogyropus normalis*, extremidade dos membros anteriores do macho.

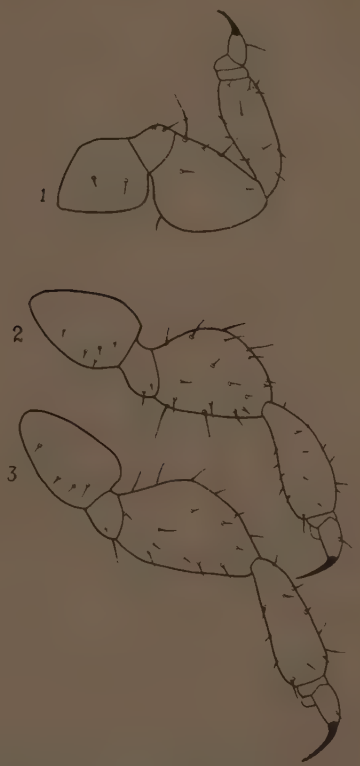



Fig. 30 — *Protogyropus normalis*, membros thoracicos.

A genitalia (fig. 32) é muito simples, tendo apenas alguns pellos pequenos nas margens dos gonopodos.

Macho (fig. 28). Comprimento: 0.82 mm.

Apresenta na extremidade dos membros anteriores o unico caracter sexual secundario que possue. O primeiro segmento tarsal é muito desenvolvido e se antepõem ao segundo, formando um systema prehensil comparavel ás garras duma tenaz (fig. 31).

Genitalia (fig. 33) constituida de placa basal fina e com dois longos ramos terminaes divergentes, de parameros delgados e recurvados e de pseudopenis em fórma de V.

Fig. 32 — *Protogyropus normalis*, genitalia da femea.

Fig. 33 — *Protogyropus normalis*, genitalia do macho.

NOTA: — Ewing, ao confirmar a determinação dos exemplares que lhe enviamos, nos communicou o seguinte facto: « I find that in the types from which my drawing of this species was made that one pair of long setae on last abdominal segment was broken off! »

## Genero **Gyropus** Nitzsch

1818 — *Gyropus* Nitzsch, Magazin der Entomologie de Germar, vol. 3, pags. 302-303.
1838 — *Gyropus* Burmeister, Handbuch der Entomologie, vol. 2, pags. 442-443.
1842 — *Gyropus* Denny, Monographia Anoplurorum Britanniae, pags. 244-245.

1844 — *Gyropus* Gervais, Histoire Naturelle des Insectes de Walkenaer, Aptères, vol. 3, pags. 315-316.
1849 — *Gyropus* Gervais, Historia fisica y politica de Chile de Claudio Gay, Zoologia, vol. 4, pags. 102-103.
1874 — *Gyropus* Giebel, Insecta Epizoa, pag. 246.
1880 — *Gyropus* Piaget, Les Pediculines, pags. 608-609.
1895 — *Gyropus* Railliet, Traité de Zoologie Medicale et Agricole, 2.ª ed., pag. 845.
1908 — *Gyropus* Kellogg. Genera Insectorum, fasc. 66, pag. 52.
1910 — *Gyropus* Mjöberg, Arkiv för Zoologi, vol. 6, n.º 13, pag. 20.
1912 — *Gyropus* Neumann, Bulletin de la Société Zoologique de France, vol. 37, pags. 212-213.
1915 — *Gyropus* Kellogg & Ferris, The Anoplura and Mallophaga of North American Mammals, Leland Stanford University Publications, University Series, pag. 65.
1924 — *Gyropus* Ewing, Proc. of the U. S. Nat. Museum, vol. 63, art. 20, pags. 12-13.
1924 — *Allogyropus* Ewing, Proc. of the U. S. Nat. Museum, vol. 63, art. 20, pag. 20.
1924 — *Monogyropus* Ewing, Proc. of the U. S. Nat. Museum, vol. 63, art. 20, pag. 10.
1924 — *Tetragyropus* Ewing, Proc. of the U. S. Nat. Museum, vol. 63, art. 20, pag. 21.

DIAGNOSE: — Mallophaga, da familia *Gyropidae*, com palpos maxillares de quatro articulos e antennas dilatadas nas extremidades distaes. Com dois ou mais membros dos pares posteriores adaptados á prender os pellos do hospedador entre os femures e as tibias, membros estes que apresentam o segundo segmento tarsal muito desenvolvido, em forma de unha e transversalmente estriado e duas protuberancias na porção anterior dos femures, onde se encaixam os ditos segmentos tarsaes quando o insecto segura-se aos pellos. Tarsos do primeiro par de membros com uma só unha. Abdomen com seis estigmas respiratorios. Especies robustas.

ESPECIE TYPO: — *Gyropus ovalis* Nitzsch.

### 1. **Gyropus ovalis** Nitzsch

1818 — *Gyropus ovalis,* Nitzsch, Magazin der Entomologie de Germar, vol. 3, pag. 304.
1838 — *Gyropus ovalis,* Burmeister, Handbuch der Entomologie, vol. 2, pag. 443.
1842 — *Gyropus ovalis,* Denny, Monographia Anoplurorum Britanniae, pags. 245-246, pl. 24, fig 1.
1844 — *Gyropus ovalis,* Gervais, Histoire Naturelle des Insectes de Walkenaer, Aptères, vol. 3, pag. 317.
1857 — *Gyropus ovalis,* Gurlt, Archiv für Naturgeschichte, vol. 23, pag. 279.

1861 — *Gyropus ovalis,* Giebel, Zeitschrift f. ges. Naturwiss., vol. 18, pag. 89, pl. 2, fig. 1-9.
1874 — *Gyropus ovalis,* Giebel, Insecta Epizoa, pags. 246-247.
1878 — *Gyropus ovalis,* Gurlt, Archiv für Naturgeschichte, vol. 44, pag. 165.
1880 — *Gyropus ovalis,* Piaget, Les Pediculines, pags. 609-611, pl. 50, fig. 5.
1880 — *Gyropus turbinatus,* Piaget, Les Pediculines, pags. 612-613, pl. 50, fig. 7.
1892 — *Gyropus ovalis,* Neumann, Traité des Maladies Parasitaires non Microbiennes des Animaux Domestiques, 2.ª ed., pags. 71-72, fig. 42.
1895 — *Gyropus ovalis,* Railliet, Traité de Zoologie Medicale et Agricole, 2.ª ed., pag. 845, fig. 588.
1896 — *Gyropus ovalis,* Osborn, Bul. 5, n. s., Div. of Entomology, U. S. Dept. of Agriculture, pag. 216, fig. 140, pag. 249.
1900 — *Gyropus ovalis,* Kellogg, Proc. of the U. S. Nat. Museum, vol. 22, pag. 79.
1908 — *Gyropus ovalis,* Kellogg, Genera Insectorum, fasc. 66, pag. 52, pl. 2, fig. 17.
1908 — *Gyropus turbinatus,* Kellogg, Genera Insectorum, fasc. 66, pag. 52.
1910 — *Gyropus ovalis,* Mjöberg, Arkiv för Zoologi, vol. 6, n.º 13, pags. 20, 239-240 e 259, figs. 1, 2, 3, 9, 110, 115, 130.
1912 — *Gyropus ovalis,* Paine, Entomological News, vol. 23, pag. 441.
1913 — *Gyropus ovalis,* Johnston & Harrison, Proc. of the Royal Soc. of Queensland, vol. 24, pag. 22.
1914 — *Gyropus ovalis,* Stobbe, Deutsche Entomologische Zeitschrift, pag. 177.
1915 — *Gyropus ovalis,* Kellogg & Ferris. The Anoplura and Mallophaga of North American Mammals, Leland Stanford Junior University Publications, University Series, pag. 65
1916 — *Gyropus ovalis,* Harrison, Parasitology, vol. 9, pag. 31.
1916 — *Gyropus turbinatus,* Harrison, Parasitology, vol. 9, pag. 32.
1924 — *Gyropus ovalis,* Ewing, Proc. of the U. S. Nat. Museum, vol. 63, art. 20, pag. 13-15, fig. 6.
1924 — *Allogyropus turbinatus,* Ewing, Proc. of the U. S. Nat. Museum, vol. 63, art. 20, pag. 20
1924 — *Gyropus ovalis,* Seguy, Les Insectes Parasites de l'Homme et des Animaux Domestiques, pags. 64-65, figs. 52, 53 e 54.
1929 — *Gyropus ovalis,* Ewing, Manual of External Parasites, pag. 108, fig. 63.
1934 — *Gyropus ovalis,* Galliard, Comptes Rendus Hebd. et Mem. de la Société de Biologie, vol. 116, pag. 1316, figs. B, E.

HOSPEDADOR TYPO: — *Savia cobaya.*

HOSPEDADORES OUTROS: — Além da cobaya domestica, referida por todos os autores, outros hospedadores foram assignalados. Stobbe indicou como tal a *Cavia aperea* e Ewing a *Cavia tschudii pallidior* (Arequipa, Perú) e uma *Cavia* proveniente de Las Palmas, Chaco, Argentina, que, segundo nos informou Dr. Doris Cochran, foi determinada posteriormente como *Cavia rufescens pamparum*. Bastante curioso foi o encontro, relatado por Mann, de parasitos desta especie em *Ischnogomphus jessei*, de Crestalina, Colombia. Piaget considerou de nova especie exemplares

encontrados em *Artomys marmotta*, e que certamente ahi se achavam casualmente

ESPECIMENS EXAMINADOS: — Além de material proveniente de cobayas, examinamos numerosos especimens colhidos em *Cavia porcellus*, de diversas regiões do Brasil, em *Euryzygomatomys spinosus catellus* de Butantan, São Paulo, Brasil, em *Lepus brasiliensis*, de São Paulo, Brasil, e em *Metachirops opossum* de Petropolis, Est. do Rio de Janeiro, Brasil.

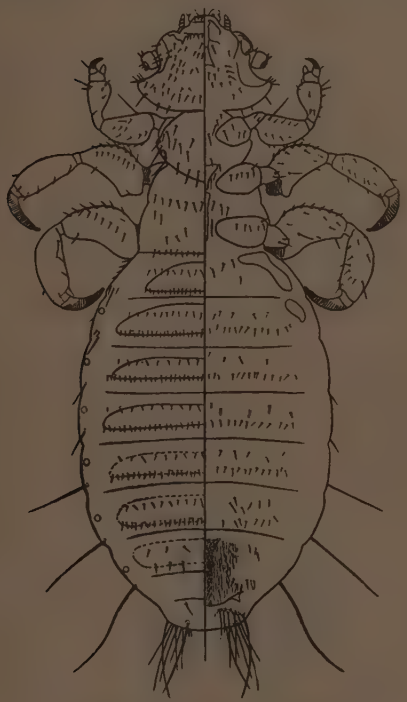


Fig. 34 — *Gyropus ovalis*, femea.

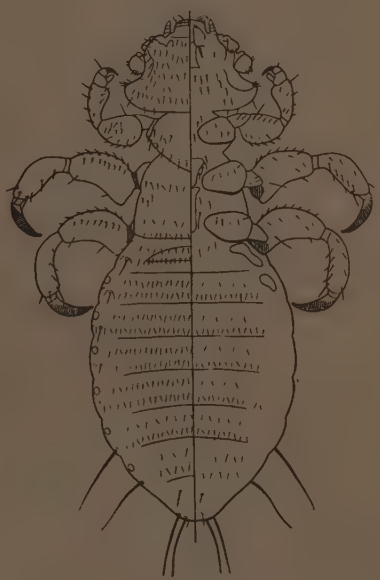


Fig. 35 — *Gyropus ovalis*, macho.

Examinamos ainda duas laminas pertencentes á collecção do Museu Britannico, com duas femeas colhidas em *Parra jacana*, de Georgetown, Guyana Ingleza, e que representam, certamente, um encontro todo fortuito ou, mais provavelmente, um engano de rotulagem.

DESCRIPÇÃO: — Femea (fig. 34). Comprimento: 1.21 mm.

Cabeça (fig. 36) muito mais larga do que longa e de contorno accidentado. Nas margens lateraes, ao nivel dos palpos maxillares, se encontram duas re-

entrancias profundas, dividindo a parte anterior da cabeça em tres grandes lobulos; um anterior e mediano e dois outros lateraes, situados entre as fossas antennaes e os referidos palpos. Seios antennaes de grande abertura e temporas salientes, ao nivel das quaes apresenta a cabeça sua maior largura. Os palpos, quer os maxillares como os labiaes, se acham implantados proximo ás margens e são facilmente visiveis, principalmente os primeiros. Do mesmo modo, as mandibulas se encontram muito a frente. Na extremidade anterior da ca-

Fig. 36 — *Gyropus ovalis*, cabeça da femea.

Fig. 37 — *Gyropus ovalis*, genitalia da femea.

beça, de cada lado, ha uma curiosa formação, visivel nos especimens frescos, constituida por uma membrana que recobre os palpos labiaes. Ambas as faces apresentam pellos pequenos e irregularmente dispostos; os da superior são, no entanto, em maior numero. Nas margens da cabeça ha alguns pel-

los mais longos nas regiões temporaes e nos lobulos lateraes de sua porção anterior.

Thorax mais longo e, approximadamente, da mesma largura que a cabeça. Prothorax arredondado, bem distincto dos demais segmentos, tendo ao longo da borda posterior alguns pellos compridos. Na face inferior se encontram duas placas esternaes, uma entre os quadris do segundo par de membros e outra entre os do terceiro, sendo a primeira subtriangular e a segunda alongada. Entre os quadris do primeiro par não vimos a placa correspondente ao prothorax, entretanto uma pequena carreira de pequenos pellos faz crêr que sua fórma seria tambem subtriangular. Membros posteriores praticamente

Fig. 38 — *Gyropus ovalis*, genitalia do macho (em repouso).

Fig. 39 — *Gyropus ovalis*, genitalia do macho (distendida).

iguaes, embora os do segundo par sejam, possivelmente, pouco menores, Os anteriores são sensivelmente menores e de typo diverso.

Abdomen grande, oval, com pequenas reentrancias nas margens lateraes, correspondentes as suturas dos diversos segmentos. Segmentos typicos com duas carreiras de pellos pequenos: uma anterior, mais pobre, e outra posterior. Esta disposição é peculiar não só aos tergitos como aos esternitos, mas nestes a carreira anterior é ainda mais pobre que a correspondente da face superior. Cada segmento tem uma cerda marginal, cujo comprimento cresce a medida que se approximam da extremidade posterior, sendo as tres ultimas bastante longas. Na face superior se encontram placas pigmentadas nos diversos seg-

mentos; as dos primeiros tergitos nitidamente delimitadas e as dos ultimos de bordas indistinctas, a transição se fazendo gradativamente. Na face inferior ha duas manchas lateraes nos segmentos 1 e 2, de fórma irregular e uma outra, grande, proxima á extremidade posterior. A porção mediana desta ultima é mais escura, de modo a formar uma faixa alongada no sentido do eixo maior do abdomen.

Genitalia como se acha representado na fig. 37, com os gonopodos bordados por cerca de doze cerdas longas.

Macho (fig. 35). Comprimento: 1.03 mm.

Muito semelhante á femea, tendo porém o abdomen de fórma oval mais pronunciada, com a extremidade posterior pontuda. Além da differença de fórma, o abdomen é menor, não só mais curto como mais estreito, resultando disto uma differença de proporções accentuada, visto serem as outras partes do corpo do mesmo tamanho em ambos os sexos. O numero e a disposição das cerdas longas marginaes do abdomen differe tambem.

Genitalia como se acha representado nas figs. 38 e 39.

NOTA: — Consideramos o *Gyropus turbinatus* identico ao *Gyropus ovalis* em virtude de informação recebida do Snr. Gordon B. Thompson, que examinou os typos existentes no Museu Britannico, a nosso pedido.

Esta especie é a unica do genero que apresenta, em cada tergito ou esternito abdominal, duas filas transversaes de pequenos pellos.

## 2. **Gyropus lineatus** Neumann

1912 — *Gyropus lineatus,* Neumann, Bulletin de la Société Zoologique de France, vol. 37, pags. 218-220, figs. 4 e 5.
1916 — *Gyropus lineatus,* Harrison, Parasitology, vol. 9, pag. 31.
1924 — *Tetragyropus lineatus*, Ewing, Proc. of the U. S. Nat. Museum, vol. 63, art. 20, pags. 21-22.

HOSPEDADOR TYPO: — *Kerodon moco*, do Pará, Brasil.

HOSPEDADORES OUTROS: — Esta especie foi assignalada por Ewing em *Proechimys mincae* (Manzanares, Colombia) e em *Kerodon australis* (Rio Chico, Santa-Cruz, Argentina).

A occorrencia de *Gyropus lineatus* no ultimo destes hospedadores carece de confirmação, porquanto Ewing encontrou apenas uma forma joven cuja determinação não póde ser tida como rigorosa.

ESPECIMENS EXAMINADOS: — Seis femeas e tres machos da collecção Neumann, evidentemente pertencentes ao lote typo e enviados para exame pelo Prof. Martin, montados numa só lamina, trazendo as seguintes indicações: *Gyropus lineatus* Nu.. Sur *Kerodon moco* Fr. Cuv., Pará (Brésil). **Göldi, 1904, Mus. Paris.**

Além destes especimens examinamos muitos outros colhidos por diversas vezes em varios exemplares do mesmo hospedador, capturados em Lassance, Minas-Geraes, Brasil.

DESCRIPÇÃO: — Femea (fig. 40). Comprimento: 1.47 mm.

Cabeça (fig. 42) ligeiramente mais larga do que longa, tendo ao nivel dos palpos maxillares pronunciada reentrancia das bordas lateraes. Fossas antennaes grandes e temporas salientes. Palpos maxillares longos, implantados junto ás margens da cabeça; facilmente visiveis portanto. Na face superior como na inferior, se encontram muitas cerdas, algumas das quaes devem ser refe-

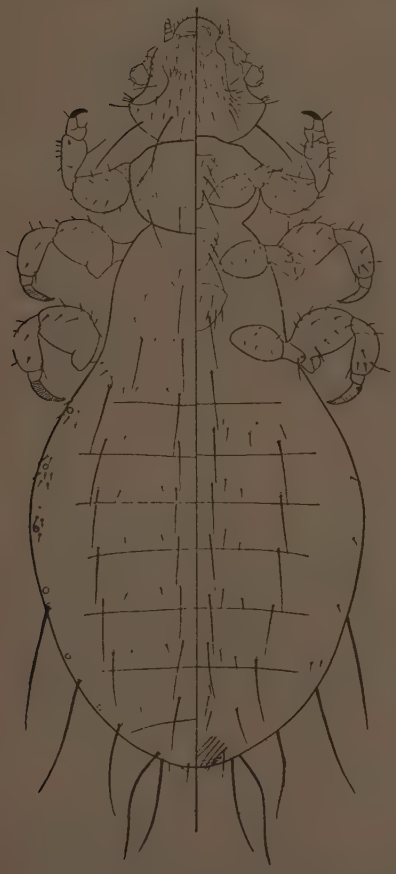


Fig. 40 — *Gyropus lineatus*, femea.

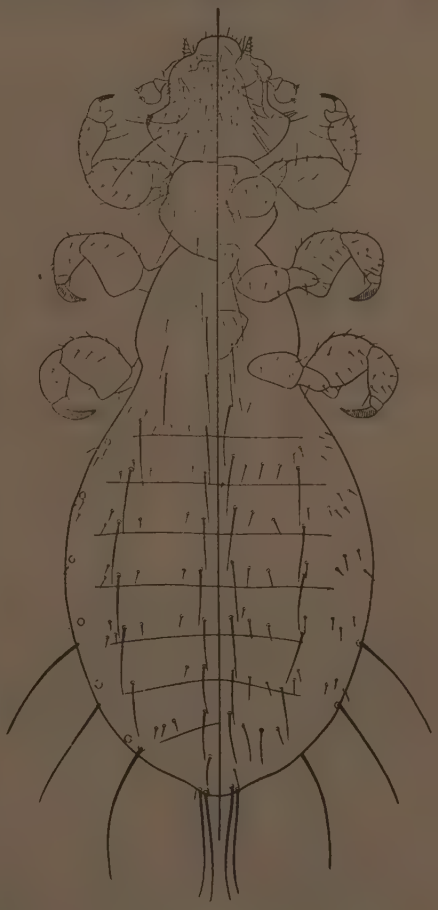


Fig. 41 — *Gyropus lineatus*, macho.

ridas pois que, pelo seu tamanho e localização, teem valor para a caracterização da especie. Assim, na face superior deve-se notar seis cerdas implantadas ao longo da borda occipital, das quaes as quatro externas são particularmente longas, e na inferior dois grupos de tres cerdas, symetricamente dispostas nas proximidades dos seios antennaes. Os pontos de implantação das cerdas destes grupos formam uma linha curta e recta, parallela á linha mediana.

Fig. 42 — *Gyropus lineatus*, cabeça da femea.

Fig. 43 — *Gyropus lineatus*, placas esternaes.

Thorax mais longo que a cabeça. Prothorax arredondado, nitidamente separado dos demais segmentos e tendo na face superior seis cerdas grandes, junto ás margens. Nas faces superiores dos outros segmentos ha, tambem, algumas cerdas compridas, prolongando as filas longitudinaes encontradas no abdomen. Na face inferior do thorax se encontram tres placas esternaes (fig 43) de aspecto proprio e caracteristico da especie. Membros curtos, sendo os dos ultimos pares adaptados á prender os pellos do hospedador entre as tibias e os femures.

Abdomen largo, oval, tendo em ambas as faces quatro carreiras longitudinaes de cerdas grandes, duas submedianas e duas submarginaes. Além das cerdas referidas, outras, em numero de cinco, são encontradas na metade posterior das margens abdominaes, a partir do quinto segmento. Pequenos pellos tambem se encontram nos tergitos, esternitos e nos primeiros pleuritos, em torno aos estigmas respiratorios.

Genitalia (fig. 44) formada de gonopodos rudimentares, bordados por cerca de dez cerdas, entre as quaes nota-se uma, a antero-interna, de fórma especial.

Fig. 44 — *Gyropus lineatus*, genitalia da femea.

Fig. 45 — *Gyropus lineatus*, genitalia do macho.

Macho (fig. 41). Comprimento 1.30 mm.

Sem caracteres sexuaes secundarios que permittam distinguil-o da femea.

Genitalia como se acha representado na fig. 45.

### 3. **Gyropus setifer** (Ewing)

1924 — *Tetragyropus setifer*, Ewing, Proc. of the U. S. Nat. Museum, vol. 63, art. 20, pags. 22-23, fig. 10.

HOSPEDADOR TYPO: — *Hoplomys gymnurus*, de San Javier, Ecuador.

NOTA: — Não nos foi possivel obter exemplares desta especie, cuja descripção original não permitte identificar facilmente.

### 4. **Gyropus setosus** Neumann

1912 — *Gyropus setosus*, Neumann, Archives de Parasitologie, vol. 15, pags. 372-375, figs. 18-19.

1916 — *Gyropus setosus*, Harrison, Parasitology, vol. 9, pag. 32.

1924 — *Allogyropus setosus*, Ewing, Proc. of the U. S. Nat. Museum, vol. 63, art. 20, pag. 20.

HOSPEDADOR TYPO: — *Proechimys securus*, de Charuplaya, Bolivia.

ESPECIMENS EXAMINADOS: — Uma femea e um macho da collecção Neumann, enviados gentilmente pelo Prof. A. Martin, com as indicações seguintes: «*Gyropus setosus*. Sur *Proechimys securus*. Colombie. N. C. Rothschild coll. 1909».

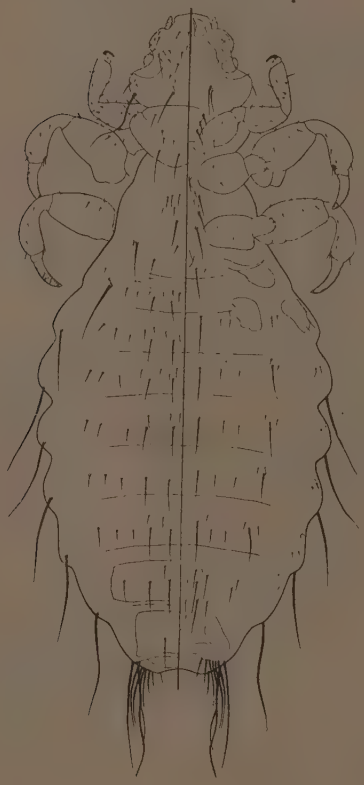


Fig. 46 — *Gyropus setosus*, femea.

Fig. 47 — *Gyropus setosus*, macho.

DESCRIPÇÃO: — Femea (fig. 46). Comprimento: 1.86 mm.

Cabeça (fig. 48) de contorno fortemente accidentado, com reentrancia forte ao nivel dos palpos maxillares, lobulos préantennaes muito desenvolvidos, fossas antennaes profundas e temporas salientes. Borda occipital quasi recta. Palpos maxillares grandes e bem visiveis. Na face superior ha algumas cerdas relativamente longas, das quaes tres se fazem notar pelo seu grande

desenvolvimento: uma na região temporal, outra na região occipital proximo á linha mediana e a ultima no lobulo préantennal. A face inferior se apresenta com pellos menores, exceptuando-se porém os dois grupos de duas cerdas longas situadas na parte posterior, á meia distancia da linha mediana e das extremidades lateraes da cabeça.

Thorax mais longo que a cabeça e mais largo do que esta, em sua porção posterior. Prothorax escutiforme; mais largo do que longo, tendo junto a borda posterior quatro cerdas grandes. Os dois outros segmentos thoracicos, tomados em conjunto, teem a fórma de tronco de cone. Na face superior do thorax se encontram cerdas de varios tamanhos, dispostas como representa-

Fig. 48 — *Gyropus setosus*, cabeça da femea.

Fig. 49 — *Gyropus setosus*, placas esternaes.

mos na fig. 46. Na face inferior ha tres placas esternaes (fig. 49), tendo cada uma fórma peculiar. A posterior, porém, é mal delimitada e sómente a zona mediana é bastante chitinisada.

Abdomen longo e largo, com as margens lateraes fortemente onduladas. No primeiro tergito se encontra uma placa pigmentada, irregular, disposta transversalmente; o mesmo occorre nos dois ultimos, sendo as placas, porém, mais regulares e occupando quasi toda a superficie tergal. Na face inferior ha seis placas, tres de cada lado, em fórma de nodulos, das quaes duas se encontram logo após os ultimos quadrís e as quatro restantes ao nivel do primeiro par de estigmas. O abdomen tem, em ambas as faces, cerdas longas e cerdas curtas, dispostas em fileiras transversaes. As de maior comprimento formam filas longitudinaes submedianas; quatro na face superior e duas na inferior. Além dessas cerdas, outras, ainda maiores, se encontram nas extremidades de quasi todos os segmentos.

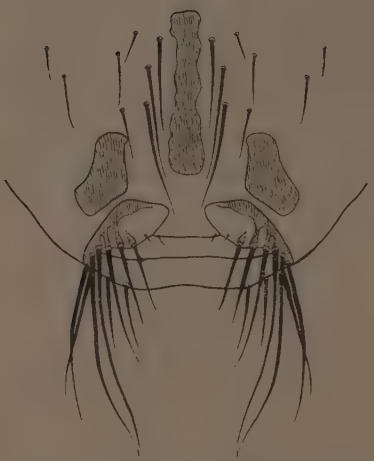


Fig. 50 — *Gyropus setosus*, genitalia da femea.

Fig. 51 — *Gyropus setosus*, genitalia do macho.

Genitalia representada na fig. 50.
Macho (fig. 47). Comprimento: 1.58 mm.
Sem caracter sexual digno de registro.
Genitalia como representamos na fig. 51.

### 5. **Gyropus parasetosus** Werneck

1935 — *Gyropus parasetosus*, Werneck, Brasil Medico, anno 49, n.º 27, pag. 598
1935 — *Gyropus parasetosus*, Werneck, Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, vol. 30, pags. 428-432, figs. 9, 21, 23, 24, 25.

HOSPEDADOR TYPO: — *Proechimys spinosus*, de Tapirapoan, Matto-Grosso, Brasil.

ESPECIMENS EXAMINADOS: — Sómente os do lote typo, constituido por um macho e quatro femeas.

### 6. **Gyropus martini** (Werneck)

1934 — *Tetragyropus martini,* Werneck, Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, vol. 28, pags. 277-282, figs. 1-10.

HOSPEDADOR TYPO: — *Proechimys albispinus*, do Corcovado, Rio de Janeiro, Brasil.

ESPECIMENS EXAMINADOS: — Os do lote typo, formado por quatro femeas e tres machos.

### 7. **Gyropus cruzi** (Werneck)

1933 — *Tetragyropus cruzi,* Werneck, Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, vol. 27, pags. 153-158, figs. 1-9.

1934 — *Tetragyropus cruzi,* Werneck, Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, vol. 28, pag. 167.

HOSPEDADOR TYPO: — *Euryzygomatomys spinosus catellus*, de Butantan, São Paulo, Brasil.

ESPECIMENS EXAMINADOS: — Os do lote typo e muitos outros colhidos no mesmo hospedador e localidade, pelo Dr. Flavio da Fonseca, do Instituto de Butantan.

### 8. **Gyropus ribeiroi** Werneck

1935 — *Gyropus ribeiroi,* Werneck, Brasil Medico, anno 49, n.º 27, pag. 598.

1935 — *Gyropus ribeiroi,* Werneck, Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, vol. 30, pags. 424-428, figs. 14-19.

HOSPEDADOR TYPO: — *Scapteromys gnambiquarae*, de Campos Nóvos da Serra do Norte, Est. de Matto-Grosso, Brasil.

ESPECIMENS EXAMINADOS: — Os do lote typo e outros colhidos em hospedador identico e da mesma proveniencia.

### 9. **Gyropus thompsoni** Werneck

1935 — *Gyropus thompsoni,* Werneck, Brasil Medico, anno 49, n.º 27, pags. 597-598.

1935 — *Gyropus thompsoni,* Werneck, Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, vol. 30, pags. 420-424, figs. 7, 8, 10, 11, 12, 13, 22.

HOSPEDADOR TYPO: — *Isothrix bistriatus*, de Porto Bicentenario, (Rio Manoel Correia, bacia do Rio São Miguel), Est. de Matto-Grosso, Brasil.

ESPECIMENS EXAMINADOS: — Além dos do lote typo, examinamos numerosos exemplares encontrados no mesmo hospedador, capturado na Bolivia.

NOTA: — Esta especie, bem como *G. lineatus*, *G. setifer*, *G. setosus*, *G. parasetosus*, *G. martini*, *G. cruzi* e *G. ribeiroi*, poderia ser incluida no genero *Tetragyropus*, em vista da disposição, em filas longitudinaes, apresentada pelas cerdas longas dos tergitos e esternitos do abdomen.

### 10. **Gyropus nematophallus** Werneck

1935 — *Gyropus nematophallus*, Werneck, Brasil Medico, anno 49, n.º 27, pag. 597.

1935 — *Gyropus nematophallus*, Werneck, Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, vol. 30, pags. 471-475, figs. 1-7.

HOSPEDADOR TYPO: — *Ctenomys luteolus*, de Abra Pampa, Prov. de Jujuy, Argentina.

ESPECIMENS EXAMINADOS: Sómente os do lote typo, isto é, uma femea e dois machos.

### 11. **Gyropus pollicaris** Ewing

1924 — *Gyropus pollicaris*, Ewing, Proc. of the U. S. Nat. Museum, vol. 63, art. 20, pags. 16-17, pl. 1, fig. 3.

HOSPEDADOR TYPO: — *Ctenomys osgoodi*, das cabeceiras do Rio Chico, Santa-Cruz, Argentina.

ESPECIMENS EXAMINADOS: — Macho e femea, colhidos em *Ctenomys magellanicus*, de Pocket Harbour, Estreito de Magalhães, Chili, cedidos gentilmente por G. B. Thompson, do Museu Britannico, e determinados, a pedido nosso, por Ewing. Examinamos, ainda, duas femeas pertencentes á collecção do referido museu, colhidas sobre o mesmo hospedador, sem indicação, porém, de logar de origem.

DESCRIPÇÃO: — Femea (fig. 52). Comprimento: 2.07 mm.

Cabeça (fig. 54) pouco mais larga do que longa, apresentando um suas margens reentrancias profundas ao nivel dos palpos maxillares e das fossas

antennaes. Temporas salientes. Antennas grandes e sem particularidade de interesse. Palpos maxillares implantados junto ás margens da cabeça, ás quaes ultrapassam, tornando-se bem visiveis. As cerdas mais compridas, da face superior, se acham dispostas em fila ao longo da borda occipital e as da face inferior, reunidas em grupos de tres, situados a igual distancia da linha mediana e dos angulos temporaes. Outras cerdas, em numero pouco elevado, se

Fig. 52 — *Gyropus pollicaris*, femea.

Fig. 53 — *Gyropus pollicaris*, macho.

encontram ainda nas duas faces e nas margens da cabeça; sua distribuição, entretanto, nada offerece de particular para a caracterização da especie.

Thorax muito maior que a cabeça; não só mais longo como mais largo. Prothorax trapeziforme, com o bordo anterior e o posterior parallelos e os lateraes convergentes, sendo o primeiro o maior e os lateraes os menores.

Os dois outros segmentos thoracicos fórmam um conjunto trapeziforme, tambem, no qual, ao contrario do que occorre no prothorax, o bordo anterior é menor que o posterior. A face superior do thorax é fartamente provida de cerdas que, nos dois ultimos segmentos, se apresentam dispostas de modo semelhante ao verificado no abdomen. No prothorax são ellas mais escassas, implantando-se as maiores nos angulos antero-externos e ao longo da margem posterior deste segmento. Na face inferior ha tres placas esternaes (fig. 55) correspondentes aos tres segmentos thoracicos. A primeira é alongada, com a margem anterior maior que a posterior e as lateraes convergentes, tendo de cada lado cinco grandes cerdas. A mediana, ou mesoesternito, apresenta a par-

Fig. 54 — *Gyropus pollicaris*, cabeça da femea.

Fig. 55 — *Gyropus pollicaris*, placas esternaes.

ticularidade de ser fortemente pigmentada. Sua fórma lembra a de um escudo e nella existe quatro grandes cerdas, duas anteriores e duas posteriores. O metaesternito é a unica das placas esternaes que tem contorno pouco nitido, do que resulta fórma menos constante. Entretanto, póde ser considerado como quadrangular, com um angulo anterior obtuso, dois lateraes rectos e um posterior agudo, e tendo os lados anteriores menores que os posteriores. Possue, de cada lado, seis cerdas longas, uma no bordo anterior e as restantes no posterior.

Os membros thoracicos variam de accôrdo com os pares a que pertencem. Os do primeiro par são normaes, sendo os dos outros adaptados á apprehensão dos pellos entre as tibias e os femures. Estes ultimos, entretanto, não são iguaes entre si, pois que a fórma dos quadrís e o tamanho dos tenaculos femuraes são sensivelmente differentes. Essa differença, porém, é muito menos accentuada do que a verificada em outras especies do genero, principalmente por não se extender ás extremidades dos membros, como succede nas referidas especies.

Abdomen longo, estreito, tendo de comprimento pouco menos que o dobro de sua largura maxima e apresentando ambas as faces revestidas de

numerosas cerdas, dispostas em duas filas regulares por segmento typico. De cada lado se encontram nove cerdas, muito maiores que as dos tergitos e esternitos, implantadas junto ás margens lateraes e á extremidade posterior do abdomen.

Genitalia (fig. 56) formada de gonopodos rudimentares, bordados de uma dupla carreira de pellos. Na região genital, deve-se notar, ainda, tres manchas pardacentas: uma longa e estreita, mediana, e duas menores, lateraes.

**Macho (fig. 53). Comprimento: 1.52 mm.**

Assemelha-se bastante á femea, da qual differe, principalmente, pela fórma das extremidades distaes dos membros anteriores e pela fórma oval do abdomen.

Fig. 56 — *Gyropus pollicaris*, genitalia da femea.

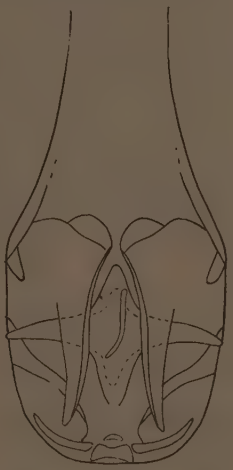


Fig. 57 — *Gyropus pollicaris*, genitalia do macho (aspecto ventral).

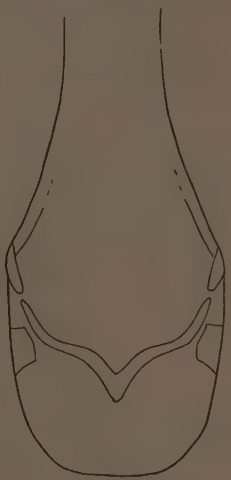


Fig. 58 — *Gyropus pollicaris*, genitalia do macho (aspecto dorsal).

A genitalia é pouco chitinisada, e difficil de ser estudada, mesmo em exemplares bem corados. Comtudo, póde-se bem ver uma placa basal larga, com a extremidade anterior mal delimitada, e a posterior bifurcada em dois pequenos ramos, nos quaes se articula o pseudopenis. Os dois parameros, longos, afilados e com os bordos internos fortemente chitinisados prendem-se ao bordo posterior da placa basal, junto á linha mediana. Para melhor comprehensão, representamos a genitalia em dois desenhos, que reproduzem o seu aspecto ventral (fig. 57) e dorsal (fig. 58)

## 12. **Gyropus latipollicaris** Ewing

1924 — *Gyropus latipollicaris*, Ewing, Proc. of the U. S. Nat. Museum, vol. 63, art. 20, pag. 17, pl. 1, fig. 4.

Hospedador typo: — *Ctenomys osgoodi*, de Rio Chico, Santa-Cruz, Argentina.

Nota: — Não nos foi possivel examinar exemplares deste parasito, o que seria em absoluto indispensavel para emittirmos opinião a seu respeito. Nestas condições devemos aceital-o, alludindo seu autor a pequenos caracteres da genitalia que o differenciariam das especies proximas, infelizmente não representados em desenhos para melhor demonstração.

Ha, effectivamente, no genero *Gyropus*, tal como o consideramos aqui, um grupo bem definido de especies, peculiares aos *Ctenomys*, caracterisado pela chaetotaxia abdominal e pela grande dilatação, em forma de pollegar, do primeiro segmento tarsal do macho. Neste grupo as genitalias são do mesmo typo, distinguindo-se apenas por particularidades subtis, ao contrario do que succede nas demais especies do genero, em que este orgão apresenta differenças de grande monta. Devemos, pois, admittir que o *Gyropus latipollicaris* pertencente a este grupo, não apresente differenças maiores.

### 13. **Gyropus ewingi** n. sp

1924 — *Gyropus forficulatus*, Ewing, Proc. of the U. S. Nat. Museum, vol. 63, art. 20, pags. 15-16, pl. 1, fig. 2 (*nec* Neumann).

Hospedador typo: — *Ctenomys opimus*, de Oruro, Bolivia.

Nota: — Em annotação anterior, relativa ao *Gyropus latipollicaris*, nos referimos ao grupo de especies que infestam os roedores do genero *Ctenomys*, grupo este que póde ser dividido, digamos, em dois sub-grupos: um comprehendendo *G. forficulatus* Ewing (*nec* Neumann), *G. pollicaris*, *G. latipollicaris* e *G. nematophallus*, em que os membros do terceiro par são iguaes aos do segundo; outro formado por *G. forficulatus* Neumann, *G. gracilis* e *G. wetmorei*, com os membros posteriores differentes dos medianos.

A figura publicada por Neumann, com a descripção original de *G. forficulatus*, e as que mais adeante reproduzimos, obtidas de cotypos amavelmente enviados pelo Prof. A. Martin, provam que esta especie pertence ao segundo sub-grupo. Assim, houve evidente engano de determinação de Ewing, que lhe attribuio caracteres do primeiro sub-grupo, não só em chave publicada como na propria redescripção da especie.

Nestas condições podemos affirmar que os exemplares determinados por Ewing como *G. forficulatus* não são da especie de Neumann. Considerando que estes mesmos exemplares só poderiam ser confundidos com *G. pollicaris* e *G. latipollicaris*, dos quaes, segundo Ewing, se distingue por pequenos caracteres da genitalia do macho, somos forçados a admittir, pelos motivos expostos na nota precedente, que pertencem á nova especie.

Não tendo recebido resposta duma carta, dirigida a Ewing em 16 de Maio de 1935, em que lhe communicavamos o assumpto desta nota, somos obrigados a estabelecer um nome especifico para seus especimens, o que fazemos homenageando-o, em vista de sua vasta contribuição ao conhecimento da familia *Gyropidae*.

### 14. **Gyropus wetmorei** Ewing

1924 — *Gyropus wetmorei*, Ewing, Proc. of the U. S. Nat. Museum, vol. 63, art. 20, pags. 19-20, figs. 8 e 9.

Hospedador typo: — *Ctenomys latro*, de Tapia, Tucuman, Argentina. (De accôrdo com informação que nos foi prestada por Dr. Doris Cochran, e indicação contida na descripção original).

Hospedadores outros: — Ewing encontrou ainda a especie acima noutra pelle de *Ctenomys*, capturado no mesmo local, e que sabemos ser identico ao hospedador typo, por informação de Dr. Cochran, do U. S. Nat. Museum.

Especimens examinados: — Exemplares colhidos em *Ctenomys barbarus* e *Ctenomys utibilis*, ambos capturados em Jujuy, Rep. Argentina. Uma femea deste material foi enviada a Ewing que a considerou identica as femeas existentes no Museu de Washington, e que constituem todo o lote typo da especie.

Uma femea e um macho, pertencentes á collecção do Museu Britannico, rotulados: « *Gyropus forficulatus* Neum. (1912), Off. «Ocultos », Argentine Ground Rat, Tucuman, Estación Experimental, A. C. 221, 23-7-1914, T. C. Barber, Pres. by Hon. N. C. Rothschild, per I. B. E. ».

Descripção: — **Femea (fig. 59). Comprimento: 1.31 mm.**

Cabeça (fig. 61) pouco mais larga do que longa, com reentrancias accentuadas nas margens lateraes, ao nivel da implantação dos palpos maxillares e dos seios antennaes, bordo occipital ligeiramente arredondado e temporas salientes e pontudas.

Na face superior se encontram alguns pellos pequenos, dispostos, principalmente, nas proximidades dos seios antennaes e seis longas cerdas junto á borda occipital; na inferior, os pellos curtos occupam, de preferencia, a metade posterior da zona mediana e as seis cerdas longas se dividem em dois grupos, situados na região occipital, entre á linha mediana e os angulos temporaes. Palpos maxillares grandes, salientes nas margens lateraes da cabeça,

Fig. 59 — *Gyropus wetmorei*, femea.

Fig. 60 — *Gyropus wetmorei*, macho.

de modo a serem todos seus articulos visiveis ainda quando o insecto é visto de cima.

Thorax muito mais comprido que a cabeça; approximadamente duas vezes mais longo do que esta. Prothorax grande, em fórma de escudo, tão largo quanto a cabeça e com o mesmo comprimento que os demais seg-

mentos thoracicos reunidos. Meso e metathorax como que fundidos num segmento unico, trapeziforme. Na face superior, do thorax ha alguns pellos grandes, ao longo da margem posterior do metathorax ou irregularmente dispersos pela superficie. Na inferior se encontram tres grandes placas esternaes, representadas na fig. 62. Destas, a primeira é trapeziforme, com seis cerdas em cada margem lateral convergente; a segunda, intensamente chitinisada, tem fórma de escudo e quatro cerdas, duas anteriores e duas posteriores; a terceira, de margens difficilmente visiveis, apresenta uma cerda na extremidade posterior e seis nas bordas lateraes.

Fig. 61 — *Gyropus wetmorei*, cabeça da femea.

Fig. 62 — *Gyropus wetmorei*, placas esternaes.

Membros do primeiro par normaes; os outros inteiramente adaptados a apprehensão dos pellos do hospedador entre as tibias e os femures. Os do segundo par sensivelmente mais fortes que os do terceiro, nos quaes os tenaculos femuraes são rudimentares, comquanto esta differença não seja tão pronunciada quanto a verificada em outras especies do mesmo genero.

Abdomen largo, oval, totalmente membranoso, com as margens lateraes guarnecidas de longas cerdas e tendo, em ambas as faces de cada segmento typico, duas filas de pellos grandes e numerosos. Na face inferior, junto á extremidade posterior, ha uma placa pigmentada, de fórma alongada, situada na linha mediana e orientada no sentido do eixo maior do abdomen.

Genitalia (fig. 63) formada de gonopodos rudimentares, com reduzido numero de cerdas pequenas, menores que as encontradas nos tergitos e esternitos abdominaes, e, geralmente, flexiveis. Encontra-se sómente, de cada lado, um par formado de cerdas grossas, rijas como espinhos.

Macho (fig. 60). Comprimento: 1.10 mm.

Assemelha-se muito a femea, da qual se distingue pelos seguintes caracteres sexuaes secundarios:

Os membros do primeiro par são mais robustos e apresentam uma dilatação no primeiro articulo dos tarsos, em fórma de pollegar.

O abdomen tem fórma oval mais accentuada e menor numero de pellos nos tergitos e esternitos de seus segmentos; as grandes cerdas marginaes são, ao contrario, mais numerosas.

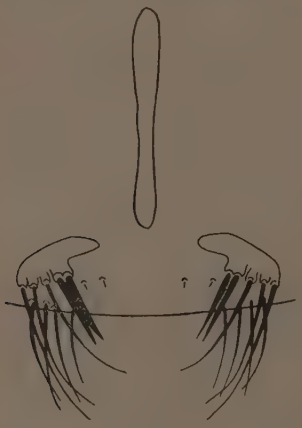


Fig. 63 — *Gyropus wetmorei*, genitalia da femea.

Fig. 64 — *Gyropus wetmorei*, genitalia do macho (aspecto ventral).

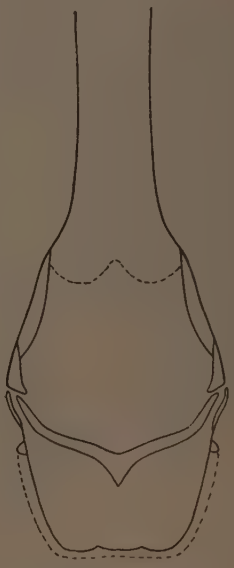


Fig. 65 — *Gyropus wetmorei*, genitalia do macho (aspecto dorsal).

Fig. 66 — *Gyropus wetmorei*, penis.

Genitalia (figs. 64 e 65): — Placa basal de margens parallelas, com dois longos ramos terminaes. Parameros pequenos; visiveis sómente em preparados bem corados. Pseudopenis grande, tendo os ramos lateraes fortemente divergentes. Penis (fig. 66) curto e grosso, apparentemente formado por duas peças em fórma de Y. Deve-se ainda notar algumas faixas provavelmente formadas por espeçamento da parede da vesicula penis.

### 15. **Gyropus gracilipes** Ewing

1924 — *Gyropus gracilipes,* Ewing, Proc. of the U. S. Nat. Museum, vol. 63, art. 20, pags. 18-19, fig. 7.

HOSPEDADOR TYPO: — *Ctenomys colburni*, de Huanuluan, Rio Negro, Argentina.

NOTA: — Ewing, a quem enviamos exemplares, posteriormente comparados e identificados aos cotypos de *G. forficulatus*, nos communicou que as femeas desta especie eram identicas ás de *G. gracilipes*. Os machos, porém, differiam pelos caracteres seguintes: « This male is different from the male of *G. gracilipes*. It is much shorter, has a longer and differently shaped tarsal thumb on leg 1, and the setae different on the posterior margin of the body. In *G. gracilipes* the size and shape of the body is the same in the two sexes ».

### 16. **Gyropus forficulatus** Neumann

1912 — *Gyropus forficulatus,* Neumann, Bulletin de la Société Zoologique de France, vol. 37, pags. 220-222, figs. 6, 7 e 8.

1914 — *Gyropus forficulatus,* Stobbe, Deutsche Entomologische Zeitschrift, pag. 177.

1916 — *Gyropus forficulatus,* Harrison, Parasitology, vol. 9, pag. 31.

HOSPEDADOR TYPO: — *Ctenomys* sp.

HOSPEDADORES OUTROS: — Baseado em identificação errada, Ewing assignalou a presença desta especie em *Ctenomys opimus*. Apezar da grande probabilidade deste roedor ser na realidade hospedeiro de *Gyropus forficulatus*, não devemos consideral-o como tal emquanto a verificação não fôr feita.

ESPECIMENS EXAMINADOS: — Duas laminas da collecção Neumann, presentemente na Escola Nacional Veterinaria de Toulouse, enviadas pelo Professor A. Martin, contendo duas femeas e dois machos do lote typo e trazendo nos rotulos os dizeres seguintes: « *Gyropus forficulatus*, Nn., Sur *Ctenomys* sp.? (Tucotuco), Tucuman, Rep. Argentina, F. Lahille, 20-VIII-1903 ».

Além deste material, examinamos duas femeas e cinco machos colhidos em 1912 pelo Dr. Giacomelli em *Ctenomys seculatus*, de La

Rioja, Argentina, enviados por G. B. Thompson, do Museu Britannico; um macho proveniente de *Ctenomys utibilis* de Jujuy, Argentina; grande numero de exemplares de ambos os sexos encontrados em *Ctenomys torquatus*, de Mercedes, Rio Negro, Uruguay.

DESCRIPÇÃO: — Femea (fig. 67). Comprimento: 1.77 mm.

Cabeça pouco mais larga do que longa, apresentando em seu contorno as reentrancias habitualmente encontradas ao nivel dos palpos maxillares e

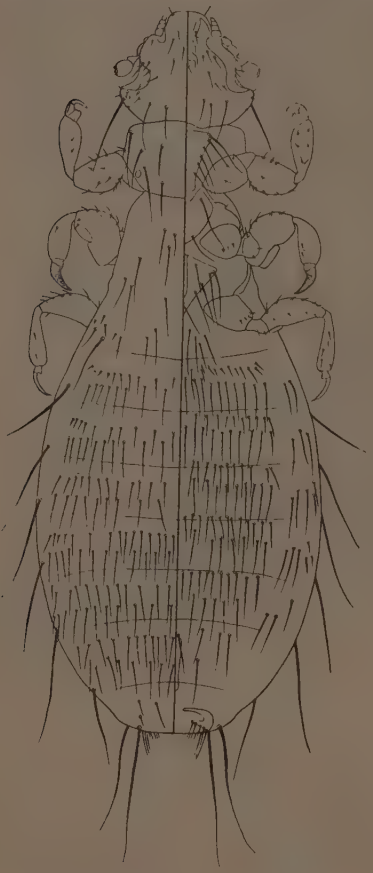


Fig. 67 — *Gyropus forficulatus*, femea.

Fig. 68 — *Gyropus forficulatus*, macho.

das fossas antennaes. Temporas pouco salientes. Antennas longas. Palpos maxillares grandes, fazendo saliencia nas margens da cabeça, junto as quaes se acham implantados e, portanto, muito visiveis. Em ambas as faces, tanto na

superior como na inferior, se encontram muitas cerdas, dispostas como se acha representado na fig. 69. As seis maiores formam uma fileira ao longo da margem occipital.

Prothorax subtrapezoidal, com o bordo posterior menor que o anterior e os lateraes ligeiramente encurvados, tendo na face tergal algumas cerdas longas. O meso e metathorax formam um conjunto em tronco de cone, apresentando, tambem, pequeno numero de cerdas irregularmente implantadas. Na face inferior do thorax ha tres placas esternaes, que representamos na fig. 70. A primeira, ou proesternito, é trapezoidal, com o bordo anterior maior que o posterior, e os lateraes, guarnecidos de cerdas longas, convergentes. O mesoesternito, cuja fórma não é facil definir, apresenta a particularidade de ser fortemente pigmentado. Nelle se encontram quatro cerdas, duas anteriores de

Fig. 69 — *Gyropus forficulatus*, cabeça da femea.

Fig. 70 — *Gyropus forficulatus*, placas esternaes.

grande comprimento e duas posteriores menores. A ultima placa, ou seja o metaesternito, é triangular, com um bordo anterior e dois lateraes e tem uma zona de maior chitinização alongada e mediana. Cada margem lateral é provida de quatro cerdas. Duas outras se implantam junto ao bordo anterior e uma terceira no angulo posterior.

Membros thoracicos de tres typos distinctos. Os anteriores são identicos aos habitualmente encontrados nas especies do genero, mas os do terceiro par differem totalmente dos encontrados em outras especies e apresentam particularidade digna de registro. Nelles se encontram todos os elementos de adaptação á apprehensão dos pellos do hospedador entre as tibias e os femures, inclusive um pequeno tenaculo femural, mas a fórma de seus seg-

mentos é inteiramente differente da dos segmentos correspondentes dos membros medianos. Os quadrís não tem a fórma oval commum e os femures e tibias são mais alongados e estreitos.

Abdomen largo, oval e com numerosos pellos em ambas as faces, distribuidos em duas carreiras por segmento. Margens lateraes guarnecidas de cerdas longas.

Genitalia (fig. 71) formada de gonopodos rudimentares, bordados de pequeno numero de cerdas.

Macho (fig. 68) Comprimento: 1.40 mm.

Além da fórma oval mais accentuada do abdomen, o macho apresenta como caracter sexual secundario a fórma da extremidade do membro ante-

Fig. 71 — *Gyropus forficulatus*, genitalia da femea.

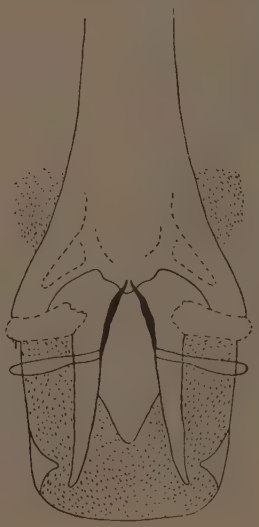


Fig. 72 — *Gyropus forficulatus*, genitalia do macho (aspecto ventral).

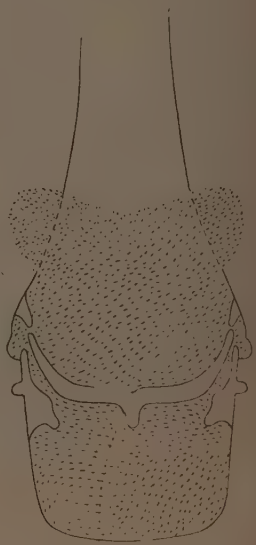


Fig. 73 — *Gyropus forficulatus*, genitalia do macho (aspecto dorsal).

rior, que devido á grande dilatação em fórma de pollegar encontrada no primeiro tarso, tem aspecto bem diverso.

A genitalia (figs. 72 e 73) é formada por uma placa basal larga, com a extremidade anterior mal delimitada e dilatada na extremidade posterior. Os parameros são pouco corados, apenas ao longo da borda interna, e principalmente no terço anterior desta, a chitina se espessa. Entre elles e as extremidades dos ramos terminaes da placa basal ha duas peças intermediarias, uma de cada lado, de contornos mal definidos e de muito difficil observação. O pseudopenis é forte e bem visivel. Entre os parameros ha uma placa triangular que julgamos representar o penis. A vesicula penis é guarnecida de pequenos espinhos. Para melhor comprehensão, representamos a genitalia em dois

desenhos, um com o aspecto ventral e outro com o dorsal. Este ultimo foi feito com o fim especial de mostrar a fórma do pseudopenis.

NOTA: — Esta especie é de tal modo um ponto de transição entre os generos *Gyropus* e *Monogyropus*, da classificação de Ewing, que nos levou á suppressão do ultimo no systema adotado neste trabalho.

### 17. **Gyropus lagotis** Gervais

1849 — *Gyropus lagotis,* Gervais, Historia fisica y politica de Chile de Claudio Gay, Zoologia, vol. 4, pag. 103.
1880 — *Gyropus lagotis,* Piaget, Les Pediculines, pags. 613-614.
1908 — *Gyropus lagotis,* Kellogg, Genera Insectorum, fasc. 66, pag. 52.
1912 — *Gyropus lagotis,* Neumann, Bulletin de la Société Zoologique de France, vol. 37, pag. 227.
1914 — *Gyropus alpinus,* Kellogg & Nakayama, Entomological News, vol. 25, pags. 196-197, pl. 8.
1916 — *Gyropus lagotis,* Harrison, Parasitology, vol. 9, pag. 31.
1916 — *Gyropus alpinus,* Harrison, Parasitology, vol. 9, pag. 31.

HOSPEDADOR TYPO: — *Lagotis cuvierii*, do Chile.

HOSPEDADORES OUTROS: — Segundo Trouessart o nome *Lagidium peruanum* deve ser usado em substituição a *Lagotis cuvierii*. Assim a indicação de Kellogg & Nakayama não significa um novo hospedador para a especie, como poderia parecer.

NOTA: — Na ausencia do material que serviu a Gervais para a descripção do *Gyropus lagotis*, de paradeiro desconhecido, somos levados a considerar a especie de Kellogg & Nakayama — *Gyropus alpinus* — identica á primeira, não podendo atinar com as razões que levaram estes autores a julgal-a nova, uma vez que na descripção original nada ha em contradicção com o que observaram e em se tratando de material colhido no mesmo hospedador e na mesma região. Não é possivel presumir que para tal haja contribuido a presença concomitante da *Philandesia townsendi*, d'outro genero e d'outra familia.

O *Gyropus lagotis* muito se assemelha ás especies encontradas nos *Ctenomys*. Nelle se verifica a mesma distribuição dos pellos longos do abdomen e a dilatação, em fórma de pollegar do primeiro articulo tarsal dos machos. A genitalia deste, porém, embora mal desenhada parece bem differente das que examinamos n'aquelles parasitos.

### 18. **Gyropus aotophilus** (Ewing)

1924 — *Tetragyropus aotophilus*, Ewing, Proc. of the U. S. Nat. Museum, vol. 63, art. 20, pags. 23-25, fig. 11.

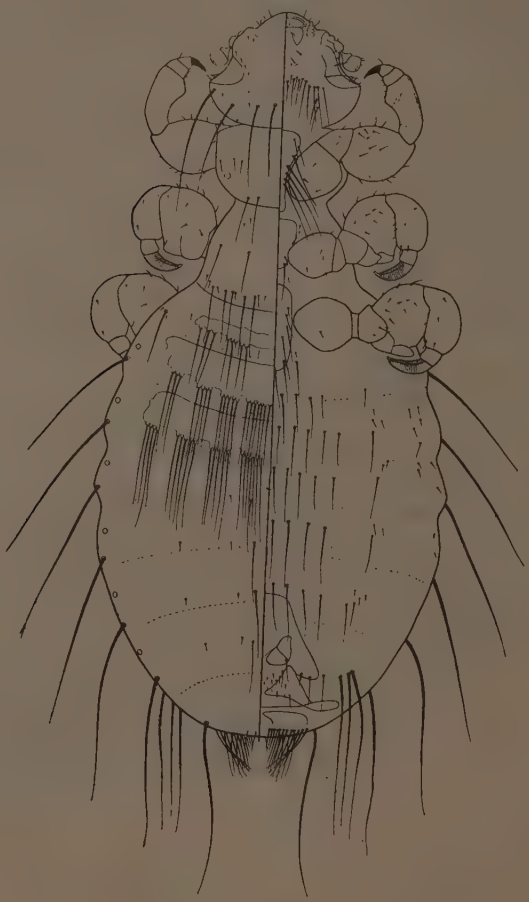


Fig. 74 — *Gyropus aotophilus*, femea.

HOSPEDADOR TYPO: — *Aotus boliviensis*.

ESPECIMENS EXAMINADOS: — Numerosos especimens, femeas, machos e formas jovens, colhidos numa pelle de *Aotus trivirgatus*, pertencente ao Museu Nacional do Rio de Janeiro e proveniente do Rio Manacapurú, Est. do Pará, Brasil.

Uma femea encontrada em pelle de *Pithecia monachus*, pertencente ao mesmo museu e capturada no Rio Tapajoz, Pará, Brasil.

DESCRIPÇÃO: — Femea (fig. 74). Comprimento: 1.94 mm.

Cabeça (fig. 76) de contorno quasi regular, sendo pouco accentuados os accidentes que ahi, normalmente, se encontram. Assim, as temporas e os lobulos existentes por deante das fossas antennaes, muito rasas, quasi não fa-

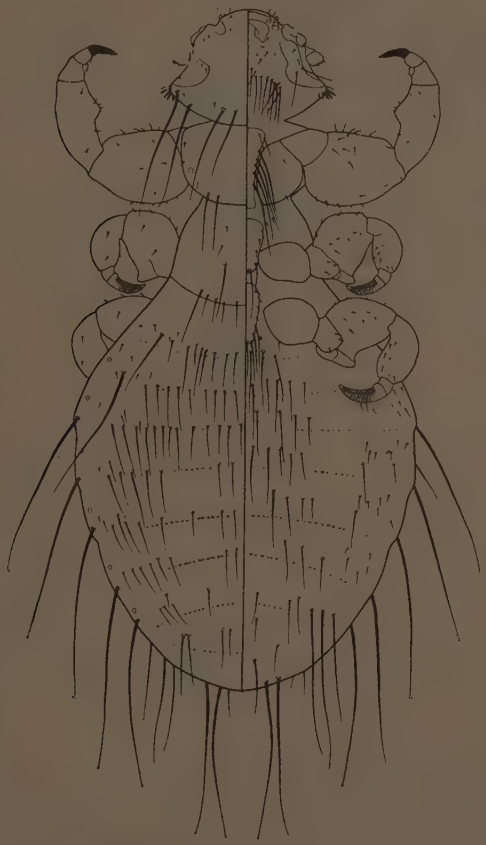


Fig. 75 — *Gyropus aotophilus*, macho.

zem saliencia nas margens lateraes. O numero de pellos curtos é pequeno e estes são destituidos de interesse. As cerdas longas, entretanto, devem ser notadas, principalmente as da face inferior que, pelo seu numero elevado e disposição em fila regular, são caracteristicas da especie. As da face superior, em numero

de oito, se implantam ao longo da margem occipital. Antennas nada apresentando de particular, a não ser, talvez, seu tamanho reduzido. Palpos maxillares muito pequenos e ultrapassando, apenas, o bordo anterior da cabeça pela extremidade do ultimo articulo.

Thorax mais longo e approximadamente tão largo quanto a cabeça e com a face tergal maior que a esternal. Prothorax escutiforme, com quatro cerdas ao longo da margem posterior, grupadas duas a duas, e alguns pellos

Fig. 76 — *Gyropus aotophilus*, cabeça da femea.

Fig. 77 — *Gyropus aotophilus*, placas esternaes.

Fig. 78 — *Gyropus aotophilus*, extremidade dos membros anteriores da femea.

em torno aos estigmas respiratorios. Nos angulos antero-externos não se encontram as grandes cerdas presentes na maioria das especies do genero. Meso e metathorax apparentemente reunidos e sem sutura visivel, tendo o ultimo, ao longo da margem posterior uma carreira de cerdas compridas intercaladas de pequenos pellos.

Na face inferior do thorax ha tres placas esternaes (fig. 77) correspondentes aos tres segmentos thoracicos. O proesternito tem um bordo an-

terior mais ou menos arredondado, e os dois lateraes convergentes, tendo cada um cerca de cinco cerdas longas e dois ou tres pequenos pellos. O mesoesternito, em fórma de escudo, apresenta duas cerdas na margem posterior e pellos pequenos nas lateraes. O metaesternito, cuja fórma é mais variavel que a das outras placas esternaes, tem as margens guarnecidas de pellos, cujos comprimentos augmentam gradativamente de modo a formarem longas cerdas na extremidade posterior do esclerito.

Os membros thoracicos do primeiro par são notaveis por seu desenvolvimento e a fórma das extremidades é curiosa (fig. 78). Os outros são iguaes, com os segundos segmentos tarsaes do mesmo tamanho e nada apresentam de particular

Abdomen largo, oval, de margens ligeiramente onduladas e guarnecidas de longas cerdas; uma em cada extremidade de seus segmentos. Os pleuritos, principalmente os anteriores, são bem visiveis, destacando-se nitidamente dos tergitos e esternitos correspondentes.

A chaetotaxia abdominal, sobretudo na metade anterior da face superior, é sobremodo interessante e caracteristica. Os tres primeiros segmentos apresentam numerosas cerdas, distribuidas em grupos bem distinctos e implantadas nas margens posteriores das placas tergaes que ahi se encontram. O numero de cerdas que fórmam estes grupos não é constante, variando nos diversos especimens que examinamos, mas, dum modo geral, póde-se dizer que é maior nos grupos medianos e menor nos marginaes. Na segunda metade da face superior, cada segmento tem duas grandes cerdas submedianas e quatro pequenos pellos. Na face inferior, os segmentos typicos apresentam uma carreira simples de cerdas longas. Nesta mesma face, deve-se ainda notar, de cada lado, proximo á extremidade posterior do abdomen, um grupo constituido de tres grandes cerdas, de comprimento quasi igual ao das cerdas marginaes do abdomen.

Genitalia formada de gonopodos rudimentares, bordados de numerosas cerdas dispostas em fila dupla. Na região genital ha ainda a assignalar diversas placas mais ou menos chitinizadas e pigmentadas que dão a esta região a aspecto representado na fig. 79.

Macho (fig. 75). Comprimento: 1.75 mm.

Semelhante á femea, della differindo, entretanto, pelo extraordinario desenvolvimento dos membros anteriores, pela fórma oval mais accentuada do abdomen e, principalmente, pela disposição das cerdas abdominaes da face superior.

Os membros anteriores, além da grande differença de tamanho já referida, apresentam ainda differença de fórma na extremidade anterior, devido á expansão da borda interna da tibia que se encontra em meio do comprimento desta e não no terço anterior, como occorre na femea.

Na face superior, os segmentos abdominaes anteriores, que na femea apresentam as cerdas distribuidas em grupos tão singulares, no macho teem simplesmente uma carreira continua de cerdas regularmente espaçadas. Nos segmentos posteriores não se observa a continuidade destas mesmas carreiras, de modo que as cerdas da segunda metade da face superior do abdomen fórmam tres grupos longitudinaes, sendo um mediano e dois marginaes.

A genitalia (fig. 80) é formada duma placa basal muito larga, de pseudopenis em fórma de V e de parameros recurvados, com a metade anterior fortemente dilatada. A vesicula penis, recoberta de pequenos espinhos, apresenta espessamentos em fórma de fita.

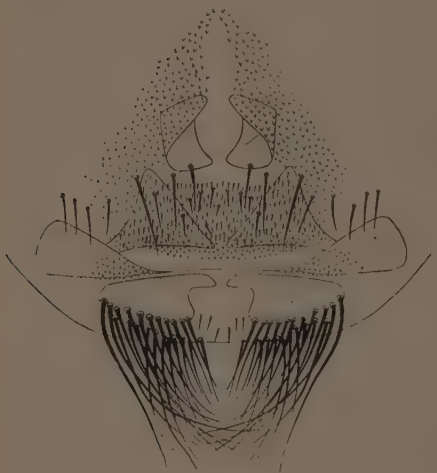


Fig. 79 — *Gyropus aotophilus*, genitalia da femea.

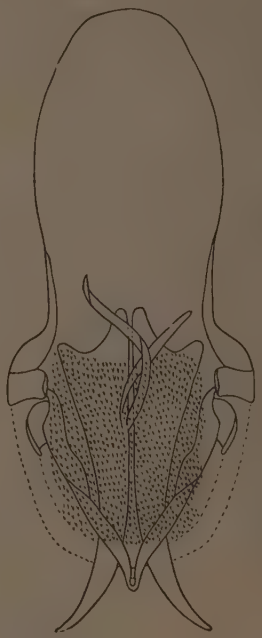


Fig. 80 — *Gyropus aotophilus*, genitalia do macho.

Fórmas jovens (figs. 81, 82, 83). Comprimento: 0,96, 1,29 e 1.54 mm.

No abundante material que recolhemos nos foi possivel reconhecer tres fórmas bem definidas, representando tres estadios evolutivos distinctos. O estudo de exemplares que, embora perfeitamente formados, ainda conservam a pelle do estadio anterior, nos permitte affirmar a ausencia de qualquer fórma intermediaria entre as acima referidas e a existencia de uma outra, que não nos foi dado colher, dum gráo evolutivo inferior. Acreditamos que esta seja a do insecto ao sahir do ovo. Se assim fôr, as figuras 81, 82 e 83 representam, respectivamente, o segundo, terceiro e quarto estadio nymphal, de cuja descripção nos dispensamos por julgar os desenhos publicados sufficientes para seu perfeito conhecimento.

Devemos notar, sómente, que os principaes caracteristicos da especie se manteem atravez a série de fórmas immaturas, inclusive o grande desenvolvimento dos membros anteriores, e que o caracter primordial de cada estadio se encontra na disposição das cerdas abdominaes. Esta disposição varia

nas fórmas do ultimo estadio evolutivo, de accôrdo com o sexo da fórma adulta a nascer, como se póde verificar pelo confronto das figs. 83 e 84, que representam fórmas jovens que evoluiriam, respectivamente, para uma femea e um macho.

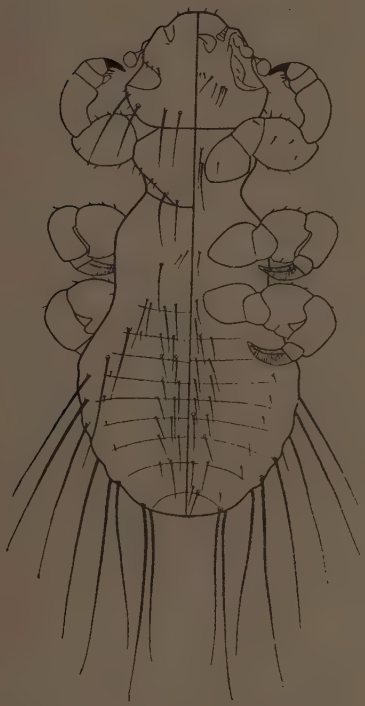


Fig. 81 — *Gyropus aotophilus*, nympha do 2.º estadio.

Fig. 82 — *Gyropus aotophilus*, nympha do 3.º estadio.

NOTA: — Ao terminar a descripção original desta especie, diz Ewing o seguinte: «The descriptions here given, based on the last nymph and egg, would not, under ordinary conditions, be offered for a new species. However, the occurrence of a species of Gyropidae on a primate host is such an unexpected thing, and the evidence of its breeding on and infesting the monkey host is so conclusive, that the description of species from a nymph seems justified. One specimen in good condition on skin of *Aotes boliviensis* (Cat. N.º 3335, U. S. Nat. Mus.) taken in Bolivia

by W. E. Moore some time before 1859. Locality not known but evidently from a tropical forested region. Not only was the louse found deep in the fur of the skin, but several nits were present, indicating the normal reproduction of the species on the monkey host of the family Cebidae ».

A estas considerações, nós poderiamos objectar que nada prova,

Fig. 83 — *Gyropus aotophilus*, nympha do 4.º estadio, da qual nascerá uma femea.

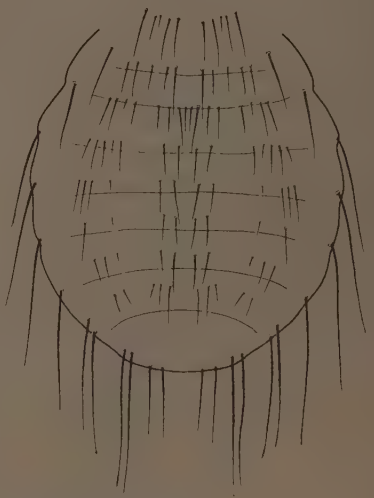


Fig. 84 — *Gyropus aotophilus*, nympha do 4.º estadio, da qual nascerá um macho.

em rigor, que os ovos encontrados pertencessem á mesma especie da nympha, e que esta poderia se encontrar na pelle por simples casualidade. Todos aquelles que, como nós, examinaram pelles conservadas em museus, em busca de parasitos, terão, certamente, verificado muitas vezes a presença de ovos adherentes aos pellos de pelles em que não mais existiam parasitos e, tambem se convencido da facilidade com que os parasitos de uma pelle podem passar para outra com que tenham

tido contacto. A possivel occorrencia simultanea destes dois factos, justificaria a reserva acima formulada, sobretudo em se tratando dum encontro tão inesperado. Entretanto, a presença de numerosos parasitos do mesmo genero, verificada por nós numa pelle de *Aotus trivirgatus*, hospedador muito proximo ao assignalado por Ewing, torna esta hypothese menos provavel, embora não a elimine por completo, porquanto nada impede, em principio, que no Museu do Rio de Janeiro se reproduzisse um facto casual, identico ao que teria occorrido no Museu de Washington. Não julgamos, porém, sensato admittir tanta casualidade, e acreditamos mais acertado acceitar a possibilidade de serem os macacos portadores de parasito deste genero.

O estudo das fórmas jovens existentes em nosso material, nos mostrou que a larva do 2.º estadio muito se approxima da forma joven representada por Ewing, embora verificassemos algumas differenças na fórma dos segmentos thoracicos e nas dimensões dos membros do primeiro par. A discordancia verificada no contorno do meso e metathorax é facilmente explicavel pela difficuldade que ha na observação das margens lateraes destes segmentos, em preparados clareados, e pela presença duma faixa de chitinização intensa ao longo destas margens, figurando um contorno identico ao representado por Ewing. As outras differenças deveriam ser confirmadas pela comparação dos specimens, pois a julgavamos dentro dos limites das imperfeições habitualmente encontradas nos desenhos.

Desejosos de proceder com acerto, enviámos um especimen a Ewing que, muito gentilmente, se prestou a comparal-o ao typo conservado no Museu de Washington. O resultado deste estudo nos foi communicado nos seguintes termos: « I have compared the nymph which you took from *Aotus trivirgatus* with my type of *Tetragyropus aotophilus* and find there is some difference in the shape of the prothorax and in the stoutness of legs I. These differences can be explained in part by the position of these structures. In the type specimen both the prothorax and the front legs are bent downward, somewhat like they should be in a live specimen, while in your specimen they are flattened out. I believe that your specimens are *Tetragyropus aotophilus* ».

Deante deste parecer, julgamos a especie devidamente identificada, identificação que só deverá ser posta em duvida se algum dia se provar que o *Aotus boliviensis* é portador de uma outra especie, tendo uma fórma joven ainda mais proxima da representada pelo referido autor.

De accôrdo com a prévisão de Ewing, a fórma adulta de *G. aotophilus* é bem distincta das demais especies do genero, dada a par-

ticular chaetotaxia da femea. Não julgámos, porém, opportuno o estabelecimento dum genero, que lhe fosse especialmente destinado.

### 19. **Gyropus parvus** (Ewing)

1924 — *Monogyropus parvus*, Ewing, Proc. of the U. S. Nat. Museum, vol. 63, art. 20, pags. 11-12, fig. 5.

HOSPEDADOR TYPO: — *Ctenomys colburni*, de Huanuluan, Rio Negro, Argentina.

HOSPEDADORES OUTROS: — Ewing encontrou, ainda, a especie em *Ctenomys sericeus*, de Rio Chico, Santa Cruz, Argentina.

ESPECIMENS EXAMINADOS: — Um macho colhido em *Ctenomys magellanicus*, proveniente de Gregory Bay, Estreito de Magalhães, Chile, que nos foi amavelmente enviado por G. B. Thompson, do Museu Britannico. Posteriormente este exemplar foi remettido a Ewing que confirmou a determinação que delle haviamos feito.

DESCRIPÇÃO: — Macho (fig. 85). Comprimento: 1.37 mm.

Cabeça larga, sobretudo ao nivel dos angulos temporaes, onde se observa sua maior largura, com o bordo anterior e o posterior arredondados e as margens lateraes reentrantes ao nivel dos seios antennaes e palpos maxillares. Temporas salientes. Os pellos, encontrados em pequeno numero em ambas as faces, são em geral curtos e só os existentes junto á margem occipital merecem ser referidos pois que formam uma fila regular, de seis cerdas, na face superior e dois grupos de tres na inferior, um de cada lado, a igual distancia da linha mediana e do angulo temporal. Palpos maxillares grandes, implantados nas margens da cabeça e bem visiveis. Antennas pequenas e da fórma habitualmente encontrada nas especies do mesmo genero.

Prothorax curto e largo, com os bordos lateraes arredondados. Mesõ e metathorax sem separação nitida, formando, apparentemente, um bloco trapeziforme, com a margem posterior maior que a anterior. O thorax, cujo comprimento é cerca de duas vezes maior que o da cabeça, apresenta na face superior algumas cerdas que pouco interesse teem, e na inferior tres esternitos correspondentes aos seus diversos segmentos. O anterior ou proesternito, subtriangular, com um angulo posterior e dois lateraes, tem cinco cerdas em cada borda lateral; o mesoesternito se apresenta com fórma de escudo, chitinisação mais intensa e duas cerdas na margem anterior; o terceiro, correspondente ao metathorax, é ovoide, mal chitinisado e inteiramente bordado de pellos.

Membros thoracicos de tres typos differentes: os do par anterior são iguaes aos commumente encontrados nas demais especies do mesmo genero; os medianos, inteiramente adaptados a apprehensão dos pellos do hospedador entre femures e tibias, teem dois grandes tenaculos femuraes e tarsos modi-

ficados, estriados e em fórma de unhas; os do ultimo par são dum typo evolutivo intermediario entre os dois primeiros. Nelles não se encontram os tenaculos femuraes e as estrias dos tarsos, que, entretanto, já se apresentam alongados e unciformes. Os membros posteriores differem, ainda, dos medianos por sua menor robustez, causada principalmente pelo diametro reduzido dos femures, e pela presença de pellos rijos não só nestes segmentos como nas tibias.

Fig. 85 — *Gyropus parvus*, macho.

Fig. 86 — *Gyropus parvus*, genitalia do macho.

Abdomen oval, com margens ligeiramente onduladas e guarnecidas de longas cerdas. Em ambas as faces se encontram numerosos pellos formando duas filas em cada segmento typico.

Genitalia (fig. 86) constituida duma placa basal longa, com dois ramos terminaes delgados, e de parameros recurvados, com os bordos nitidamente marcados por duas linhas, e apparentemente formados por duas camadas chitinisadas superpostas. Na zona mediana, entre os ramos terminaes da placa

basal e os parameros, ha uma formação difficil de ser bem estudada e comprehendida, que acreditamos representar o penis.

Femea: — Desconhecida.

Nota: — A differença entre o desenho da genitalia do macho, que acompanha a descripção original da especie, e o que aqui publicamos é devida, como suppunhamos, ao máo estado de conservação dos exemplares de Ewing. Consultado a respeito, este autor assim se manifestou em carta que nos dirigiu: « Your stained specimen shows that what I called, « four pairs of very long, slender, curved seta-like structures . . . », to be the margins of the parameres. In the type specimen one of these parameres has its end broken off and the other shows up badly ».

## 20. **Gyropus longus** Neumann

1912 — *Gyropus longus,* Neumann, Bulletin de la Société Zoologique de France, vol. 38, pags. 222-224, figs. 9 e 10.
1916 — *Gyropus longus,* Harrison, Parasitology, vol. 9, pag. 31.
1924 — *Monogyropus longus,* Ewing, Proc. of the U. S. Nat. Museum, vol. 63, art. 20, pags. 10-11, figs. 1 e 4.

Hospedador typo: — *Abrocoma bennetti*, do Chile.

Hospedadores outros: — Neumann verificou a presença deste parasito em dois outros roedores, não determinados. Os exemplares examinados por Ewing provinham, tambem, de *Abrocoma*, de Valenar, Chile.

Especimens examinados: — Duas laminas da collecção Neumann, enviadas para exame pelo Prof. A. Martin, contendo quatro femeas e dois machos e rotuladas: « *Gyropus longus* Nn. Sur Raton (gen. ?), n.º 12. Peñaflor (Chile). 21-3-95. C. E. Porter ». Os exemplares acima referidos pertencem, sem duvida alguma ao lote typo.

Descripção: — Femea (fig. 87). Comprimento: 2.30 mm.

Cabeça (fig. 89) ligeiramente mais larga do que longa, apresentando nas margens lateraes quatro reentrancias, correspondentes ás fossas antennaes e aos palpos maxillares. Temporas salientes. Tanto na peripheria como em ambas as faces, se encontram numerosas cerdas grandes, sendo que as maiores formam uma fileira na face superior, ao longo da borda occipital. Antennas muito desenvolvidas. Palpos maxillares grandes, não ultrapassando porém a borda anterior da cabeça.

Fig. 87 — *Gyropus longus*, femea.

Fig. 88 — *Gyropus longus*, macho.

Thorax consideravelmente maior que a cabeça; duas vezes mais comprido do que esta. Prothorax subtrapezoidal, mais largo do que longo, recobrindo em parte a porção posterior da cabeça e apresentando na face superior algumas cerdas grandes. Nos angulos anteriores se encontram implantadas as de maior comprimento. Meso e metathorax sem sutura visivel. O primeiro com pequeno numero de pellos na face superior e o segundo com duas carreiras regulares de cerdas longas.

Na face inferior do thorax ha tres placas esternaes de contorno bem marcado (fig. 90). A primeira, subtriangular, tem os bordos lateraes guarnecidos com cerdas longas e um outro anterior. A segunda, fortemente pigmentada, é oval, tendo dois pellos junto á reentrancia da extremidade anterior e dois outros, menores, na extremidade posterior. A terceira e ultima, oval tambem, apresenta os dois terços posteriores das margens guarnecidos de pellos e duas cerdas na porção anterior, sendo parte da superficie fortemente chitinisada.

Fig. 89 — *Gyropus longus*, cabeça da femea.

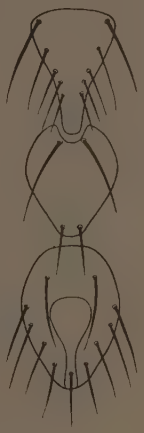


Fig. 90 — *Gyropus longus*, placas esternaes.

Os membros thoracicos pertencem á tres typos distinctos. Os do primeiro par são normaes e os do segundo são inteiramente adaptados á apprehensão dos pellos do hospedador entre os femures e as tibias. Uns e outros são habitualmente encontrados nas especies do genero. Os posteriores representam uma fórma intermediaria, ainda não totalmente differenciada, pela falta das saliencias dos femures onde, no typo perfeito, se alojam os segundos segmentos tarsaes, já modificados na especie que agora descrevemos.

Abdomen muito longo e estreito, tendo em cada segmento typico duas carreiras regulares de pellos em ambas as faces e duas longas cerdas marginaes.

Genitalia (fig. 91) com pequeno numero de cerdas nos gonopodos.

Macho (fig. 88). Comprimento: 1.85 mm.

O macho possue dimorphismo sexual. O prothorax é maior e tem, em cada bordo lateral, dois fortes espinhos orientados para fóra e para traz. Abdo-

men mais largo, não apresentando as cerdas dispostas em carreiras transversaes tão regulares quanto as da femea.

Genitalia (fig. 92) curta, larga e oval, de difficil interpretação.

Fig. 91 — *Gyropus longus*, genitalia da femea.

Fig. 92 — *Gyropus longus*, genitalia do macho.

NOTA: — A ausencia total de tenaculos femuraes e de estrias no segundo segmento tarsal dos membros do terceiro par, verificada neste parasito e em *G. parvus*, serviu de base ao estabelecimento dum novo genero: *Monogyropus*. Embora reconhecendo que ambas as especies apresentam este caracter commum, que as separa facilmente das outras do genero *Gyropus*, não julgamos conveniente, no momento, adoptar o referido genero.

### 21. **Gyropus hispidus** Nitzsch

1838 — *Gyropus hispidus*, Nitzsch *in* Burmeister, Handbuch der Entomologie, vol. 2, pag. 443.

1844 — *Gyropus hispidus*, Gervais, Histoire Naturelle des Insectes de Walkenaer, Aptères, vol. 3, pag. 317.
1861 — *Gyropus hispidus*, Giebel, Zeitschrift f. ges. Naturwiss., vol. 18, pag. 92.
1874 — *Gyropus hispidus*, Giebel, Insecta Epizoa, pag. 247.
1878 — *Gyropus hispidus*, Gurlt, Archiv für Naturgeschichte, vol. 44, pag. 165.
1880 — *Gyropus hispidus*, Piaget, Les Pediculines, pag. 614.
1908 — *Gyropus hispidus*, Kellogg, Genera Insectorum, fasc. 66, pag. 52.
1912 — *Gyropus hispidus*, Neumann, Bulletin de la Société Zoologique de France, vol. 37, pag. 227.
1916 — *Gyropus hispidus*, Harrison, Parasitology, vol. 9, pag. 31.
1924 — *Gyropus hispidus*, Ewing, Proc. of the U. S. Nat. Museum, vol. 63, art. 20, pags. 36-37.

Hospedador typo: — *Bradypus tridactylus*.

Nota: — Esta especie foi descripta dum exemplar unico colhido em pelle de preguiça (*Bradypus tridactylus*), não tendo sido nunca mais encontrada pelos autores que se tem occupado do estudo da ordem. Na bibliographia acima citada se encontram, apenas, referencias á descripção original. Transcrevemos do trabalho de Ewing a seguinte informação: « In order to establish, if possible, the validity of this record the writer has gone over the entire collection of several scores of sloth skins in the United States National Museum. During all this search not a single louse or nit was found. Added to this negative evidence is that given by Dr. W. M. Mann, who during his trip with the Mulford Expedition to South America, observed live sloths, several of which were killed and examined for lice but with negative results ». Devemos accrescentar ter sido identico o resultado de nossas pesquizas em numero elevado de preguiças. Examinamos muitas pelles conservadas e animaes vivos ou mortos recentemente em seu habitat nunca encontrando, sequer, um ovo. Deante disso acreditamos que o especimen de Nitzsch devia pertencer á pelle de outro hospedador, pelle esta que tivesse estado em contacto com a examinada. Na impossibilidade de identificar a especie, pela ausencia de dados necessarios, somos de opinião que deve ser posta á margem emquanto não puder ser revalidada pelo encontro duma especie do mesmo genero no hospedador typo, o que se nos afigura muito pouco provavel.

## Genero **Macrogyropus** Ewing

1924 — *Macrogyropus*, Ewing, Proc. of the U. S. Nat. Museum, vol. 63, art. 20, pag. 25.
1924 — *Heterogyropus*, Ewing, Proc. of the U. S. Nat. Museum, vol. 63, art. 20, pag. 27.

DIAGNOSE: — Mallophaga, *Gyropidae*, com palpos maxillares de quatro articulos e com antenna dilatada na extremidade distal. Membros dos dois ultimos pares adaptados á segurar os pellos do hospedador como foi descripto para o genero *Gyropus*. Tarsos do primeiro par de membros com duas unhas. Especies robustas.

ESPECIE TYPO: — *Macrogyropus dentatus* Ewing.

### 1. **Macrogyropus dicotylis** (Macalister)

1869 — *Gyropus dicotylis*, Macalister, Proc. of the Zoological Society of London, pags. 420-423, fig.
1874 — *Gyropus dicotylis*, Giebel, Insecta Epizoa, pag. 247.
1878 — *Gyropus dicotylis*, Gurlt, Archiv für Naturgeschichte, vol. 44, pag. 165.
1880 — *Gyropus dicotylis*, Piaget, Les Pediculines, pag. 614.
1908 — *Gyropus dicotylis*, Kellogg, Genera Insectorum, fasc. 66, pag. 52.
1916 — *Gyropus dicotylis*, Harrison, Parasitology, vol. 9, pag. 31.
1924 — *Macrogyropus dicotylis*, Ewing, Proc. of the U. S. Nat. Museum, vol. 63, art. 20, pag. 25.

HOSPEDADOR TYPO: — *Dicotyles torquatus*.

ESPECIMENS EXAMINADOS: — Grande numero de exemplares, dos dois sexos, colhidos repetidamente em *Tayassus tajacu*, isto é, no hospedador typo, e em *Tayassus albirostris* de diversas regiões do Brasil.

DESCRIPÇÃO: — Femea (fig. 93). Comprimento: 4.20 mm.

Cabeça (fig. 95) mais larga do que longa, tendo a porção anterior ás fossas antennaes em fórma de ogiva e temporas angulosas. Palpos maxillares com quatro segmentos bem distinctos, ultrapassando as margens lateraes da cabeça. Antennas pequenas, com o ultimo articulo ligeiramente alongado. Na face superior, na região occipital, ha uma fileira de pellos, dos quaes os que occupam as extremidades são mais compridos, e em cada angulo temporal duas cerdas. Outros pellos se encontram, de menor importancia, porém, nesta mesma face e na inferior.

Thorax duas vezes mais comprido que a cabeça. Prothorax arredondado, mais largo do que longo, tendo na face superior uma faixa transversal e duas manchas escuras junto ás margens lateraes. Os dois outros segmentos thoracicos formam um todo de fórma subcylindrico, na face superior do qual se encontra uma linha transversal escura, bordada de pellos, correspondendo ó sutura do meso e metathorax. Na face superior deste ultimo veem-se algumas

linhas limitando um espaço em fórma de escudo. Na face inferior do thorax não se encontram placas esternaes.

Extremidades distaes das tibias dos membros anteriores (fig. 96) com dilatação arredondada na qual ha uma fileira de pellos curtos e grossos, em fórma de ganchos, cuja observação se torna difficil devido a pouca affinidade para com as materias corantes. Membros dos pares posteriores adaptados á prender os pellos do hospedador entre as tibias e os femures, as extremidades proximaes destes apresentando um grande sulco onde se encaixa o segundo segmento tarsal muito desenvolvido. Nestes dois pontos a superficie do

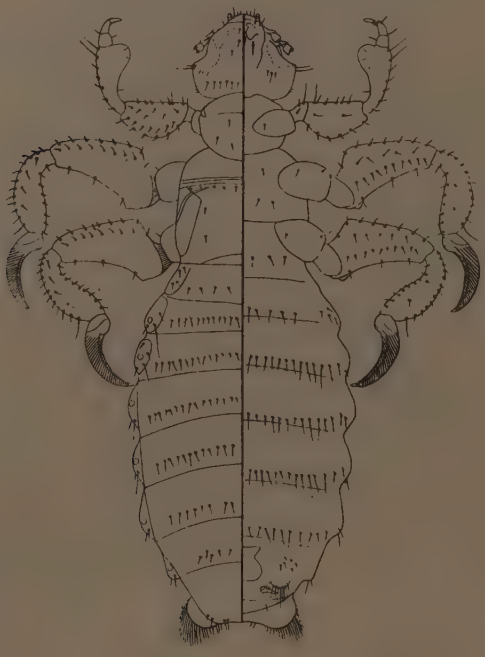


Fig. 93 — *Macrogyropus dicotylis*, femea.

tegumento é nitidamente estriada, augmentando o attricto das partes em contacto. Abdomen comprido, com as margens lateraes fortemente onduladas e tendo ao longo do bordo posterior dos segmentos typicos uma fileira de pellos, sendo os da face superior mais curtos e mais fortes que os da face inferior. Os pleuritos, que apresentam nos tres primeiros segmentos zonas de chitinisação intensa bem delimitadas, verdadeiras placas pleuraes, teem uma cerda longa implantada nas proximidades dos estigmas respiratorios.

A região genital, bastante caracteristica, acha-se representada na fig. 98.

Macho (fig. 94). Comprimento: 3.54 mm.

Differe da femea pela fórma das extremidades distaes das tibias do

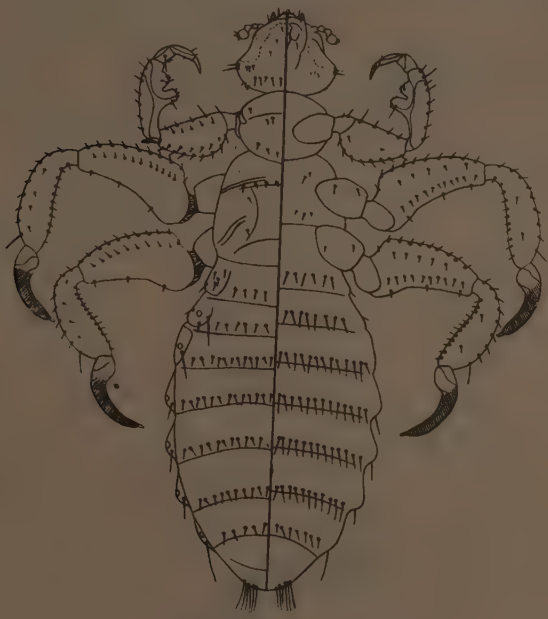


Fig. 94 — *Macrogyropus dicotylis*, macho.

primeiro par de membros (fig. 97) que apresenta duas dilatações, das quaes a proximal fórma como um pollegar. A pigmentação do tegumento nesta porção da tibia concorre para accentuar este aspecto, em exemplares fracamente corados.

Genitalia representada na fig. 99.

NOTA: — A identificação dos exemplares que possuimos á especie acima foi feita pela concordancia dos mesmos com a descripção e desenho publicados por Macalister. Pequenas differenças porventura existentes devem correr por conta da diversidade dos methodos de estudo e, principalmente, dos de desenho. Devemos ainda considerar que nosso material foi encontrado em repetidos exames procedidos no hospedador typo. Na ausencia dos especimens que serviram ao referido autor, nos parece ser este o unico criterio a ser adoptado.

Em 1924, Ewing descreveu uma especie, *Macrogyropus dentatus*, de 4 femeas, 2 formas immaturas e 6 ovos encontrados em pelles de *Pe-*

*cari angulatus crusnigrum* de Nicaragua e Costa Rica, especie esta que incluio em novo genero, juntamente com *Macrogyropus dicotylis*.

Fig. 95 — *Macrogyropus dicotylis*, cabeça da femea.

Fig. 96 — *Macrogyropus dicotylis*, extremidade dos membros anteriores da femea.

Fig. 97 — *Macrogyropus dicotylis*, extremidade dos membros anteriores do macho.

É de suppor, que nesta occasião, o referido autor não dispusesse de exemplares da especie de Macalister, pois doutro modo a teria redescripto como fez, dum modo geral, para todas as especies da familia

*Gyropidae*. Nestas condições seus conhecimentos relativos a *M. dicotylis*, só poderiam ter sido fornecidos pela descripção original que, embora optima para sua epoca, não poderia mais ser julgada sufficiente.

No estudo de *M. dentatus*, publicado por Ewing, não encontramos elementos bastantes para nos convencer de que não fosse egual a *M. dicotylis*. Da chave, deste autor, para as especies do genero, se deduz que a maior differença encontrada seria a da fórma da dilatação da extremidade distal da tibia, em fórma de pollegar. Entretanto, esta differença nada mais é do que um caracter sexual secundario, que, no caso, perde todo o valôr se considerarmos que Macalister descreveu e figurou a fórma propria aos machos e Ewing a peculiar ás femeas, só dispondo de exemplares deste sexo.

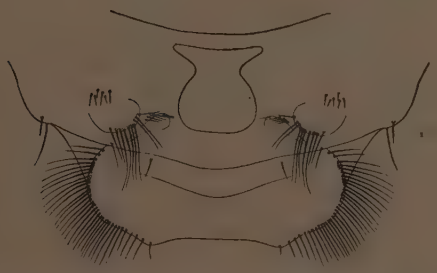


Fig. 98 — *Macrogyropus dicotylis*, genitalia da femea.

Fig. 99 — *Macrogyropus dicotylis*, genitalia do macho.

Desejosos de remover esta duvida e não dispondo de especimens de *M dentatus*, enviamos alguns de *M. dicotylis* á Ewing, que muito gentilmente os comparou ao material typico do primeiro. O resultado do confronto, nos foi communicado nos seguintes termos: « I have compared the specimens of *Macrogyropus dicotylis* Macalister which you recently sent with our specimens of *Macrogyropus dentatus* Ewing. The specimens which you sent are much larger than those of *dentatus*, the legs are more slender, and the claws of tarsus 1 are almost twice as long. Also the inflation of tibia 1 is much more pronunced than in *dentatus* ».

Deante deste parecer deixamos de considerar a especie de Ewing identica a de Macalister.

## 2. **Macrogyropus amplexans** (Neumann)

1912 — *Gyropus amplexans,* Neumann, Bulletin de la Société Zoologique de France, vol. 37, pags. 224-226, figs. 11-12, 13.
1914 — *Gyropus amplexans,* Stobbe, Deutsche Entomologische Zeitschrift, pag. 177.
1916 — *Gyropus amplexans,* Harrison, Parasitology, vol. 9, pag. 31.

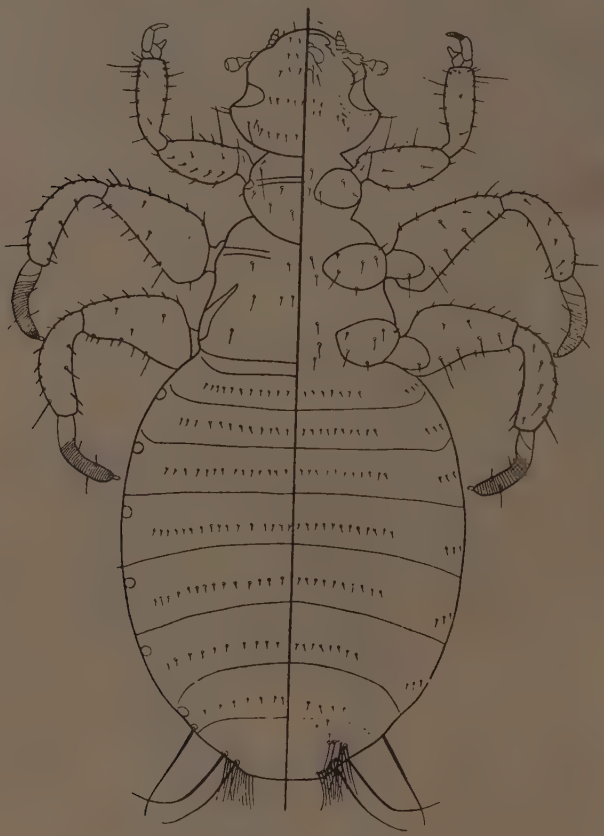


Fig 100 — *Macrogyropus amplexans,* femea.

1924 — *Allogyropus amplexans,* Ewing, Proc. of the U. S. Nat. Museum, vol. 63, art. 20, pag. 20.
1931 — *Heterogyropus costalimai,* Werneck, Boletim Biologico, fasc. 18, pags. 21-22, figs. 1, 2, 3.
1931 — *Heterogyropus amplexans,* Werneck, Boletim Biologico, fasc. 19, pags. 137-142, figs. 1-7.

HOSPEDADOR TYPO: — *Dasyprocta aguti*, do Brasil.

ESPECIMENS EXAMINADOS: — Uma lamina da collecção Neumann, certamente do lote typo, enviada amavelmente pelo Prof. A. Martin, de Toulouse, com duas femeas e as seguintes indicações: « *Gyropus amplexans* Nn. Sur *Dasyprocta aguti* Brésil. Göldi, IX, 93. (par Trt?) ».

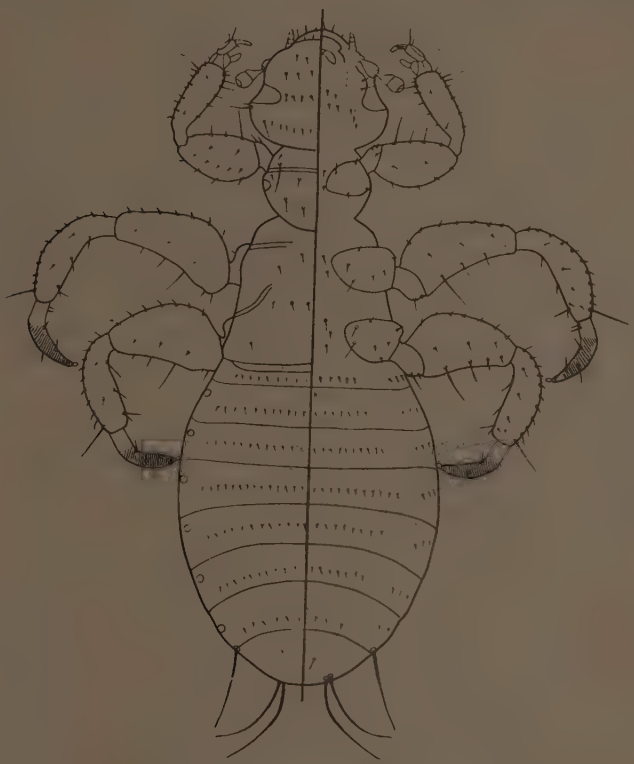


Fig. 101 — *Macrogyropus amplexans*, macho.

Grande numero de exemplares, de ambos os sexos colhidos em *Dasyprocta aguti* e em *Coelogenys paca*, de diversas localidades do Brasil.

Tres laminas pertencentes ao Museu Britannico, enviadas por G. B. Thompson, com 2 femeas e 1 macho colhidos em *Dasyprocta fuliginosa* por G. Hammond, sem indicação de localidade de origem.

DESCRIPÇÃO: — Femea (fig. 100). Comprimento: 2.18 mm.

Cabeça pouco mais larga do que longa, com a margem anterior e a

occipital arredondadas. Pellos pequenos e pouco numerosos; na face superior se encontram alguns na porção anterior e outros estendidos em linha parallela á margem occipital, tendo nas extremidades uma cerda mais comprida; na inferior ha dois grupos, um mediano e um junto aos seios antennaes. Temporas, ao nivel das quaes a cabeça apresenta sua largura maxima, salientes e angulosas, com duas pequenas cerdas nas extremidades. Palpos maxillares longos, delgados, formados de quatro articulos e facilmente visiveis, pois que ultrapassam, de muito, as margens lateraes, devido a seu ponto de implantação junto á estas. Antennas pequenas, com o ultimo segmento ligeiramente alongado.

Thorax volumoso, quasi duas vezes mais longo que a cabeça e, em grande extensão mais largo do que esta, apparentemente formado de dois unicos segmentos. Prothorax arredondado, nitidamente separado, com um par de estigmas respiratorios e, na face tergal, uma faixa pigmentada transversal e alguns pellos irregularmente espalhados; duas cerdas maiores se encontram junto ás margens, por deante dos estigmas. Meso e metathorax reunidos num pterothorax trapeziforme, com a margem anterior menor que a posterior; a sutura que os reune, porém, é bem visivel. Na face tergal do metathorax ha alguns pellos pequenos e, junto ás bordas lateraes, uma faixa de tegumento espessado. Na face inferior do thorax se encontram alguns pellos entre os quadrís de todos os membros, sem vestigios, entretanto, de placas esternaes.

Membros grandes; os medianos e posteriores do mesmo tamanho, os anteriores menores. Os do primeiro par normaes, com duas unhas grandes, em gotteira, apresentando devido a isto duas pontas nas extremidades livres; os outros, apezar de adaptados para apprehender os pellos entre femures e tibias, não teem tenaculos femuraes como as especies do genero *Gyropus* e sim um simples sulco estriado onde se aloja o segundo segmento tarsal.

Abdomen grande, oval, inteiramente membranoso, tendo em cada segmento typico uma carreira regular de pellos curtos junto aos bordos posteriores, carreira esta mais longa na face tergal do que na external. Nesta ultima face se encontram, além das fileiras já referidas, grupos de tres cerdas em cada segmento, proximo ás margens lateraes do abdomen e que, na realidade, pertencem ás bordas posteriores dos pleuritos. Na extremidade posterior ha tres pares de cerdas longas; o anterior implantado junto ao sexto estigma respiratorio e os outros no ultimo segmento abdominal. Seis pares de estigmas respiratorios, ao longo das margens lateraes do abdomen, com a abertura voltada para cima.

Genitalia (fig. 102) formada de gonopodos rudimentares, bordados de longas cerdas dispostas em semicirculo.

Macho (fig. 101). Comprimento: 1.93 mm.

Muito semelhante á femea. Femures do primeiro par ligeiramente mais grossos que os demais, emprestando aos respectivos membros aspecto mais robusto. Abdomen menor, em comprimento e largura.

Genitalia (figs. 103 e 104) formada de placa basal, longa e de margens parallelas, que se divide em dois grandes ramos terminaes divergentes. Pseudo-penis forte, com o ramo terminal largo e curto. Penis grande, tubular e bi-furcado na metade proximal.

Fig. 102 — *Macrogyropus amplexans*, genitalia da femea.

Fig. 104 — *Macrogyropus amplexans*, genitalia do macho (distendida).

Fig. 103 — *Macrogyropus amplexans*, genitalia do macho (em repouso).

NOTA: — Esta especie foi incluida, por Ewing, no genero *Allogyropus*, o que traduz evidente engano do referido autor, pois que possue, nos membros anteriores, duas unhas, representadas por Neumann no desenho que acompanha a descripção original. Posteriormente, a consideramos pertencente ao genero *Heterogyropus*, onde deverá figurar para os que admittirem integralmente a classificação de Ewing. Neste trabalho, ella se acha no genero *Macrogyropus* porque achamos mais conveniente reunil-o a *Heterogyropus*.

### 3. **Macrogyropus heteronychus** (Ewing)

1924 — *Heterogyropus heteronychus*, Ewing, Proc. of the U. S. Nat. Museum, vol. 63, art. 20, pags. 27-29, figs. 2 e 12, pl. 1, fig. 6

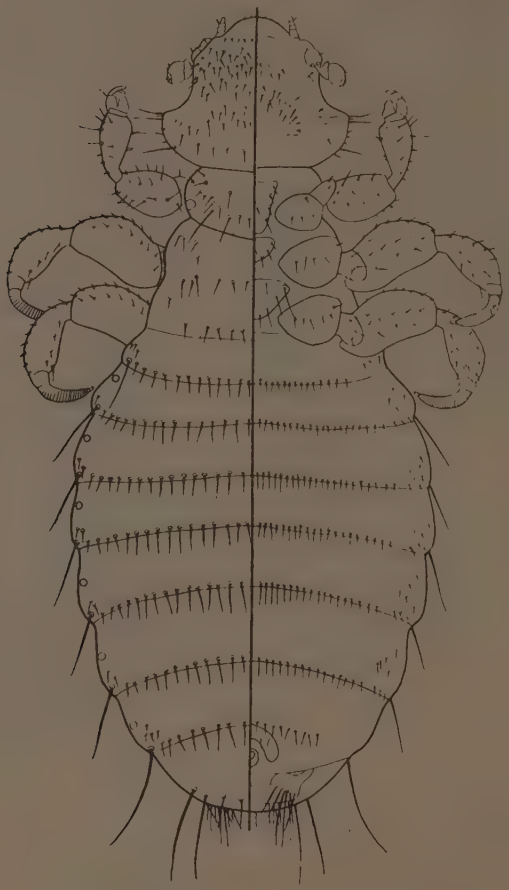


Fig. 105 — *Macrogyropus heteronychus*, femea.

Hospedador typo: — *Kerodon spixii*. de Lamaras, Bahia. Brasil.

Especimens examinados: — Material abundante de *Cavia porcellus* (Tapéra, Pernambuco, Brasil), colhido por D. Bento Pickel, do qual enviamos uma femea a Ewing, que, muito gentilmente, a comparou ao typo existente no Museu de Washington, confirmando nossa determinação.

Innumeros exemplares encontrados em *Galea leucoblephara* de diversas localidades da Argentina (Prov. de Jujuy e Santiago del Estero), capturadas por Dr. Salvador Mazza.

DESCRIPÇÃO: — Femea (fig. 105). Comprimento: 1.06 mm.

Cabeça (fig. 107) pouco mais larga do que longa, com a margem anterior, onde se encontra pequeno numero de pellos curtos, arredondada, a occipital

Fig. 106 — *Macrogyropus heteronychus*, macho.

quasi recta e as lateraes fortemente onduladas. Em seu contorno ha reentrancias accentuadas, ao nivel dos seios antennaes e do ponto de implantação dos palpos maxillares, dividindo a metade anterior em tres lobulos, um mediano formado pela região clypeal e dois lateraes. Face superior revestida, quasi in-

teiramente, por grande numero de pellos curtos, na maioria espalhados de modo irregular; oito cerdas, entretanto, um pouco maiores que as demais formam uma fileira ao longo da borda occipital. Os pellos da face inferior são do mesmo comprimento que os da superior, mas em numero muito menor, e se dispõem em fila curva, na segunda metade da cabeça; apenas alguns se implantam nas proximidades dos seios antennaes ou das peças buccaes. Temporas fortemente salientes e angulosas, com tres pares de cerdas longas, dos quaes os dois primeiros, gemeos, occupam o vertice dos angulos temporaes e o terceiro se acha junto á margem occipital. Fossas antennaes longas, mas não muito profundas. Palpos maxillares e antennas grandes; ambos formados de quatro segmentos. Os primeiros implantados junto ás margens lateraes da cabeça, o que os torna bem visiveis, e os segundos com o ultimo articulo ligeiramente alongado.

Thorax pouco mais longo e largo que a cabeça, formado dum segmento

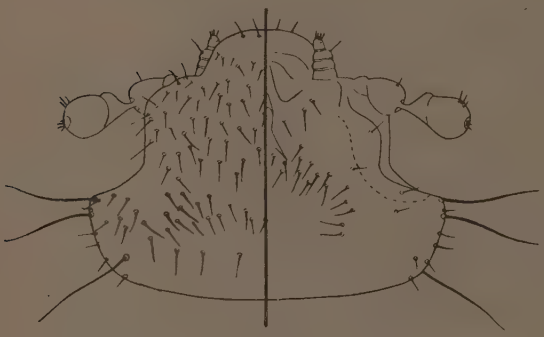


Fig. 107 — *Macrogyropus heteronychus*, cabeça da femea.

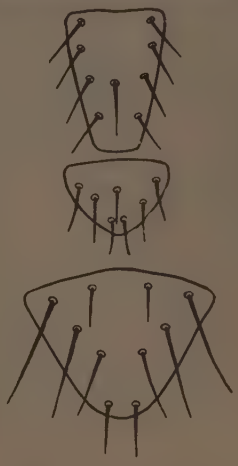


Fig. 108 — *Macrogyropus heteronychus*, placas esternaes.

anterior bem destacado dos demais, que se apresentam reunidos num só bloco ou pterothorax. Prothorax arredondado, tendo porém, como os outros segmentos thoracicos, largura muito superior ao comprimento; em sua face tergal ha um numero, bem elevado, de pellos ao longo da margem posterior e das lateraes, junto as quaes se encontra um par de estigmas respiratorios. Pterothorax trapeziforme, com a margem anterior menor que a posterior e as lateraes divergentes, tendo na face tergal alguns pellos ao longo do bordo posterior e outros irregularmente implantados.

Na face inferior do thorax, ha tres placas esternaes, difficeis de serem vistas e só perceptiveis em preparações favoraveis (fig. 108). A primeira é longa e estreita, trapezoidal, com a extremidade distal mais estreita que a anterior. As outras são largas e curtas, triangulares, com dois angulos lateraes e um posterior; a segunda é, porém, muito menor que a terceira. Todas se apresentam com as margens lateraes guarnecidas de cerdas.

Membros anteriores normaes e menores que os outros; os medianos e posteriores iguaes, adaptados á apprehensão dos pellos do hospedador entre as tibias e os femures.

Abdomen largo e oval, de margens onduladas, tendo, ao longo da borda posterior dos segmentos typicos, uma fila simples e regular de pellos, cujo comprimento diminue gradativamente do centro para as extremidades; deve-se notar que os pellos dos tergitos são mais longos, mais fortes e mais espaçados que os dos esternitos. Alguns pellos pequenos, dispersos um tanto irregularmente, occupam as superficies dos tergitos. Margens lateraes do abdomen guarnecidas de cerdas longas; uma para cada segmento, implantada no pleurito respectivo. Na face superior, ha ainda, na extremidade distal do abdomen,

Fig. 109 — *Macrogyropus heteronychus*, genitalia da femea.

Fig. 110 — *Macrogyropus heteronychus*, genitalia do macho.

uma fila de cerdas com dois elementos em cada extremidade, tão longos quanto as cerdas marginaes deste.

Seis pares de estigmas respiratorios abdominaes, de abertura voltada para cima.

Genitalia (fig. 109) formada de gonopodos rudimentares, com pellos compridos e fortes. Placa genital fracamente pigmentada, em fórma de crescente, envolvendo pequena area circular, mal pigmentada tambem.

Macho (fig. 106). Comprimento: 0.92 mm.

Semelhante á femea, da qual se distingue unicamente pelo seu menor tamanho e fórma do abdomen, de extremidade posterior mais pontuda e com maior numero de cerdas longas.

Genitalia (fig. 110): — Placa basal curta e larga, ligeiramente estrangulada em meio de seu comprimento e com dois ramos terminaes de extremidades retorcidas em gancho. Parameros fortes ,curvos, com a metade anterior

larga e posterior delgada, tendo na margem externa da ponta livre pequena formação, semelhante a um pello curto voltado para fóra. O penis, que repousa entre os parameros e os ramos terminaes da placa basal quando o apparelho copulador se encontra recolhido ao abdomen, é muito complexo e caracteristico.

NOTA: — Esta especie foi descripta como especie typo do genero *Heterogyropus*, e como tal deverá ser considerada para os que o adoptarem.

## Familia **Trimenoponidae** Harrison

1915 — *Trimenoponidae,* Harrison, Parasitology, vol. 8, pags. 123-124.
1916 — *Trimenoponidae*, Harrison, Parasitology, vol. 9, pags. 27-31.
1922 — *Trimenoponidae,* Ferris, Parasitology, vol. 14, pags. 75-76.
1922 — *Trimenoponidae,* Harrison, Australian Zoologist, vol. 2, pags. 154-155.

DIAGNOSE: — Mallophaga *Amblycera*, apresentando, portanto, palpos maxillares e antennas dilatadas nas extremidades distaes, formadas por segmentos de fórma variavel. As antennas, quando em repouso, podem se occultar nos seios antennaes existentes nas margens da cabeça. Palpos labiaes de dois articulos. Olhos ausentes. Mesothorax, quando visto de cima, muito reduzido ou apparentemente reunido ao prothorax. Tarsos de todos os membros com duas unhas. Cinco pares de estigmas abdominaes.

DIVISÃO GENERICA: — Adoptamos neste trabalho, dum modo geral, a mesma divisão generica encontrada na revisão da familia *Trimenoponidae*, publicada por Ferris; apenas os generos *Trimenopon* e *Philandesia* foram reunidos. O conhecimento de duas especies novas, que descrevemos em 1933 e 1935, parece justificar esta medida, apezar de reconhecermos em *Trimenopon jenningsi* um facies proprio que o distingue das demais especies. Este aspecto peculiar, entretanto, lhe é dado por caracteres de pouco valor, que de modo algum justificam a manutenção dum genero em familia composta de tão pequeno numero de especies. Os generos restantes foram mantidos, embora provavelmente não o possam ser no futuro, caso a familia se torne mais numerosa.

### CHAVE PARA A DETERMINAÇÃO DOS GENEROS DA FAMILIA *TRIMENOPONIDAE*

1 Fórma da cabeça muito accidentada. Temporas extraordinariamente salientes e tendo, nas extremidades, gan-

| | | |
|---|---|---|
| | chos fortes e intensamente chitinisados. Angulos antero-lateraes da cabeça alongados e voltados para fóra e para traz; em fórma de gancho. | *Harrisonia.* |
| 1' | Cabeça sem taes caracteres. | 2. |
| 2 (1') | Face inferior da cabeça com dois pares de espinhos fortes, implantados junto ás bases das antennas. | *Cummingsia.* |
| 2' | Face inferior da cabeça sem espinhos | *Trimenopon.* |

DISTRIBUIÇÃO: — As especies desta familia são exclusivamente sul-americanas e occorrem em marsupiaes e roedores.

## Genero **Trimenopon** Cummings

1913 — *Trimenopon,* Cummings, Bulletin of Entomological Research, vol. 4, pags. 39-40.
1914 — *Philandesia,* Kellogg & Nakayama, Entomological News, vol. 25, pags. 198-199.
1914 — *Philandria,* Kellogg, American Naturalist, vol. 48, pag. 257.
1915 — *Trimenopon,* Kellogg & Ferris, The Anoplura and Mallophaga of North American Mammals, pag. 66.
1915 — *Trimenopon,* Harrison, Parasitology, vol. 8, pags. 123-124.
1916 — *Trimenopon,* Harrison, Parasitology, vol. 9, pag. 31.
1916 — *Philandesia,* Harrison, Parasitology, vol. 9, pag. 31.
1922 — *Trimenopon,* Ferris, Parasitology, vol. 14, pag. 77.
1922 — *Philandesia,* Ferris, Parasitology, vol. 14, pag. 77.
1922 — *Philandesia,* Harrison, Australian Zoologist, vol. 2, pags. 155-156.
1922 — *Trimenopon,* Harrison, Australian Zoologist, vol. 2, pag. 156.

DIAGNOSE: — Mallophaga da familia *Trimenoponidae*, com as margens da cabeça perfeitamente lisas ou com pequenas reentrancias ao nivel das fossas antennaes. Na face inferior, junto aos primeiros segmentos antennaes, não se encontram dois pares de grandes espinhos, fortemente chitinisados e voltados para traz. Região clypeal limitada por uma sutura distincta.

ESPECIE TYPO: — *Trimenopon jenningsi* (Kellogg & Paine).

### 1. **Trimenopon jenningsi** (Kellogg & Paine)

1910 — *Menopon jenningsi,* Kellogg & Paine, Entomological News, vol. 21, pags. 461-462, fig. 1.
1912 — *Menopon jenningsi,* Kellogg & Paine, Entomological News, vol. 23, pag. 442.

1913 — *Trimenopon echinoderma*, Cummings, Bulletin of Entomological Research, vol. 4, pags. 40-41, fig. 4.
1914 — *Trimenopon jenningsi*, Stobbe, Deutsche Entomologische Zeitschrift, pag. 177.
1915 — *Trimenopon jenningsi*, Kellogg & Ferris, The Anoplura and Mallophaga of North American Mammals, Leland Stanford Junior University Publications, University Series, pag. 66.

Fig. 111 — *Trimenopon jenningsi*, femea.

1916 — *Trimenopon jenningsi*, Harrison, Parasitology, vol. 9, pag. 31.
1922 — *Trimenopon jenningsi*, Ferris, Parasitology, vol. 14, pag. 77, figs. 1, 2a, 3a, 4b.
1934 — *Menopon extraneum*, Galliard. Comptes Rendus Hebd. et Mem. de la Société de Biologie, vol. 116, pag. 1316, fig. A.

HOSPEDADOR TYPO: — *Cavia cobaya*, cobaia domestica da zona do canal de Panamá.

HOSPEDADORES OUTROS: — A especie foi encontrada tambem em *Cavia aperea*, do Paraguay (Cummings) e *Cavia cutleri*, do Perú (Paine).

ESPECIMENS EXAMINADOS: — Abundante material encontrado, não só na cobaia domestica, como em *Cavia porcellus* de diversas localidades do Brasil, em *Lepus brasiliensis*, de São Paulo e do Est. do Rio de Janeiro e em *Metachirops opossum*, de Petropolis, Est. do Rio de Janeiro, Brasil.

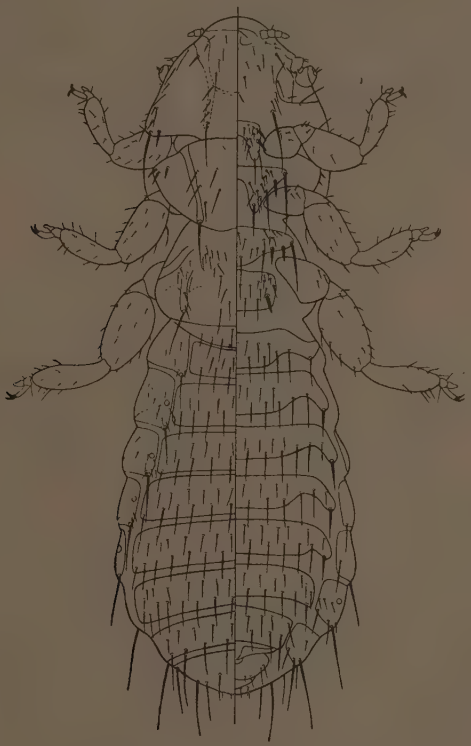


Fig. 112 — *Trimenopon jenningsi*, macho.

DESCRIPÇÃO: — Femea (fig. 111). Comprimento: 2.05 mm.

O contorno da cabeça (fig. 113), cuja fórma geral pode ser comparada a d'um triangulo, é muito regular, notando-se apenas ligeira reentrancia ao nivel dos palpos maxillares. Embora o bordo occipital apresente, tambem, algumas ondulações, estas são, de regra, recobertas pela margem anterior do prothorax e visiveis unicamente em preparados transparentes.

Na face superior ha alguns pellos dispostos em quatro filas: duas mar-

ginaes, ao longo dos bordos lateraes, e duas submedianas. Junto a margem posterior da cabeça, se estende uma fila formada por quatro cerdas longas, das quaes as duas externas se encontram nos angulos temporaes e as internas no prolongamento das linhas submedianas de pellos curtos, acima referidas, como se fossem os ultimos elementos das mesmas. Deve-se ainda, notar, de cada lado, dois grandes espinhos: um ao nivel do ponto de implantação das antennas e outro na região temporal, para dentro da grande cerda que ahi se implanta. Ha um terceiro espinho, muito menor que os outros, situado na extremidade posterior das margens lateraes.

A face inferior apresenta alguns pellos pequenos, irregularmente dispersos, e duas cerdas longas implantadas a meia distancia da linha mediana e dos angulos temporaes.

Palpos maxillares grandes, formados de quatro articulos, cujo diametro decresce insensivelmente, ultrapassando de muito as margens da cabeça. Antennas pequenas, semelhantes as encontradas nas especies da familia *Gyropidae*.

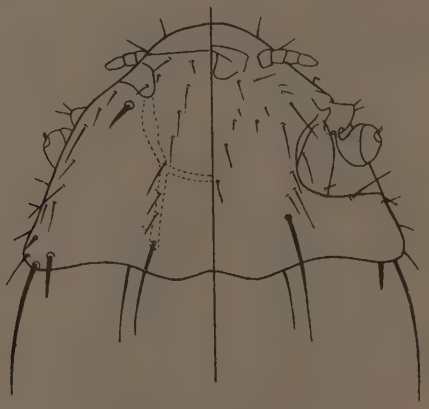


Fig. 113 — *Trimenopon jenningsi*, cabeça da femea.

Estes orgãos podem se recolher a grandes seios antennaes, totalmente recobertos pela face superior da cabeça e visiveis, portanto, unicamente, pelo lado ventral.

O thorax, visto de cima, é apparentemente formado de dois unicos segmentos. É possivel, entretanto, que uma pequena zona clara, que se estende transversalmente como uma faixa por traz do prothorax, pertença ao mesothorax do qual represente a face superior visivel. Pro e metathorax subtrapezoidaes; o primeiro com a margem anterior, convexa, maior que a posterior e os bordos lateraes convergentes e o segundo com a margem anterior menor que a posterior e bordos lateraes divergentes. Na face superior do prothorax ha, de cada lado, uma faixa de tegumento espessado, escura, que partindo da margem anterior deste segmento thoracico, num ponto em que este apresenta leve reentrancia, termina junto ao angulo formado pela margem posterior e borda lateral. Na extremidade distal desta faixa, encontra-se uma grande cerda; outras menores se implantam ao longo de sua margem

interna e no espaço comprehendido entre esta e a linha mediana. Em cada angulo formado pela reunião das bordas lateraes com a anterior, ha tres espinhos fortes, dois voltados para fóra e um para traz. Na face superior do metathorax se encontram, tambem, faixas identicas as referidas para o segmento anterior, tendo nas extremidades posteriores uma longa cerda. Os outros pellos são menores, mas em numero muito maior que os encontrados no prothorax; implantam-se, principalmente, ao longo das referidas faixas, junto a margem anterior e na região mediana.

Na face inferior do thorax ha tres placas esternaes, correspondentes ao pro, meso e metathorax. As duas primeiras teem fórma semelhante: são alon-

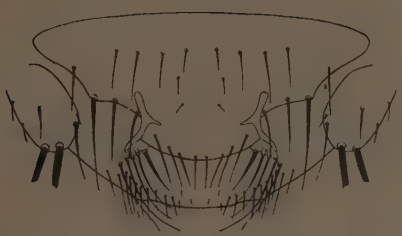


Fig. 114 — *Trimenopon jenningsi*, genitalia da femea.

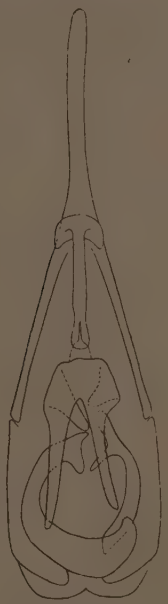


Fig. 115 — *Trimenopon jenningsi*, genitalia do macho

gadas, estendem-se transversalmente e apresentam na margem posterior, proximo as extremidades lateraes, duas grandes saliencias. Poder-se-ia consideral-as, tambem, como formadas por duas superficies triangulares, cobertas de pequenos pellos e ligadas por uma barra transversal, em cujas margens externas se encontram cerdas grandes ou espinhos grossos. A placa posterior é de fórma mas difficil de ser definida e de contorno menos nitido e regular. Em alguns especimens parece dividida em duas outras. Sua superficie apresenta numerosos pellos pequenos e nas margens ha cerdas e espinhos semelhantes aos encontrados nas placas precedentes.

Todos os membros thoracicos teem a mesma fórma, o tamanho porém varia, verificando-se do primeiro ao ultimo um augmento gradativo.

Abdomen oval, curto e largo, tendo de comprimento pouco mais de metade do comprimento total do insecto. Os segmentos typicos apresentam placas tergaes, esternaes e pleuraes fortemente chitinisadas, pigmentadas e bem definidas. As placas tergaes, que occupam quasi totalmente a face superior dos segmentos abdominaes, teem duas filas transversaes de pellos: uma anterior, irregular, formada de pellos pequenos e outra posterior constituida de cerdas maiores e dispostas com mais regularidade.

Os esternitos apresentam pellos com a mesma distribuição; apenas devemos notar a grande robustez dos que se encontram em suas extremidades lateraes, curiosamente encurvadas para traz nos cinco primeiros segmentos. Nas placas pleuraes se encontram duas cerdas, longas e fortes, implantadas nos angulos formados pela reunião das margens lateraes com a posterior, que devido a pouca espessura e falta de pigmentação de parte dos pleuritos se apresentam com lobulos alongados.

Nas margens do abdomen ha cinco pares de estigmas repiratorios.

A genitalia (fig. 114) é formada de gonopodos pequenos, revestidos dum grande numero de cerdas, dentre as quaes uma é particularmente forte.

Macho (fig. 112). Comprimento: 1.85 mm.

Sem nenhum caracter sexual secundario.

A genitalia (fig. 115) é muito complexa, difficil de ser interpretada e descripta: seu aspecto é, entretanto, muito caracteristico. Nella pode-se bem distinguir uma placa basal longa, fina e com dois grandes ramos terminaes divergentes e um orgão com a extremidade proximal fortemente dilatada, que suppomos ser o penis.

### 2. **Trimenopon mazzai** Werneck

1933 — *Trimenopon mazzai*, Werneck, Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, vol. 27, pags 418-421, figs. 1-3.

Hospedador typo: — *Eriomys chinchilla*, da região da Cordilheira dos Andes, fronteira á Abra Pampa, Prop. de Jujuy, Argentina.

Especimens examinados: — Os do lote typo e muitos outros colhidos sobre o mesmo hospedador por Dr. Salvador Mazza, em Jujuy, Argentina.

### 3. **Trimenopon chinchillae** Werneck

1935 — *Trimenopon chinchillae*, Werneck, Brasil Medico, anno 49, n.º 27, pag. 598.

1935 — *Trimenopon chinchillae*, Werneck, Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, vol. 30, pags. 475-479, figs. 9-13.

HOSPEDADOR TYPO: — *Eriomys chinchilla*, da região da Cordilheira dos Andes, fronteira á Abra Pampa, Prop. de Jujuy, Argentina.

ESPECIMENS EXAMINADOS: — Os do lote typo e muitos outros colhidos sobre o mesmo hospedador por Dr. Salvador Mazza, em Jujuy, Argentina.

### 4. **Trimenopon townsendi** (Kellogg & Nakayama)

1914 — *Philandesia townsendi*, Kellogg & Nakayama, Entomological News, vol. 25, pags. 199-200, pl. 8.
1916 — *Philandesia townsendi*, Harrison, Parasitology, vol. 9, pag. 31.
1922 — *Philandesia townsendi*, Ferris, Parasitology, vol. 14, pags. 78-80, figs. 2b, 3b, 4a, 5.

HOSPEDADOR TYPO: — *Lagidium peruanum*, de Ninahuanchi, Perú.

HOSPEDADORES OUTROS: — Ferris assignalou a especie em *Viscacia inca*, de Junin, Perú.

ESPECIMENS EXAMINADOS: — Duas femeas, um macho e duas fórmas immaturas, colhidos em *Lagidium pallipes* de Iquique (Perú), montados em quatro laminas pertencentes ao Museu Britannico e enviadas, gentilmente, para exame, por G. B. Thompson.

Uma femea encontrada em *Eriomys chinchilla*, caçada na Cordilheira dos Andes, deante de Jujuy (Argentina) e pertencente a nossa collecção.

DESCRIPÇÃO: — Femea (fig. 116). Comprimento: 2.07 mm.

Cabeça (fig. 118) muito typica; limitada por pequeno bordo anterior curvo, margens lateraes divergentes e posterior quasi recta, tem fórma geral triangular, com um angulo anterior e dois posteriores. Nas margens lateraes, deve-se notar profundas reentrancias ao nivel dos seios antennaes.

A face superior apresenta, dispersos em quasi toda sua superficie e junto as margens da cabeça, grande numero de pellos de comprimento variavel: alguns curtos, outros longos. Junto a borda occipital ha, entretanto, uma fila de cerdas que, pelo grande comprimento destas, merece especial referencia. É ella formada por seis elementos, dos quaes os mais longos occupam as extremidades, implantados nos angulos temporaes. Os pellos da face inferior se encontram numa zona que se estende transversalmente em meio do comprimento da cabeça e junto aos seios antennaes. Os maiores, cujo comprimento iguala ao das longas cerdas anteriormente referidas na face superior, se acham arrumados em fila, limitando posteriormente a zona pilosa desta face, sendo os das extremidades particularmente grandes. Devemos notar, ainda, em cada região temporal, uma cerda de tamanho médio, que se implanta em pequena elevação do tegumento e se dirige de traz para deante e de dentro para fóra.

Angulos temporaes fortemente accentuados.

Antennas normaes, semelhantes as encontradas nas demais especies do mesmo genero. Seios antennaes grandes, tendo, em ambas as faces, profundas reentrancias; as da face superior semicircular e as da inferior cuneiformes.

Palpos maxillares delgados e longos.

O thorax, visto de cima, parece formado de dois unicos segmentos: o anterior, resultante da apparente fusão do pró e mesothorax e o posterior representado pelo metathorax. É possivel que não haja uma fusão real dos

Fig. 116 — *Trimenopon townsendi*, femea.

segmentos anteriores, sendo, neste caso, o mesothorax representado por uma pequena zona intermediaria entre os dois segmentos extremos. Comtudo, para effeito desta descripção, adoptaremos a primeira hypothese.

Segmento anterior limitado por quatro margens: a anterior, de grande curvatura, em parte recoberta pelo bordo occipital, as lateraes convergentes e a posterior quasi recta. Poder-se-ia qualifical-o de subtrapezoidal sua fórma geral, se não fosse a curvatura da margem anterior. Na face superior ha grande

numero de pellos de varios tamanhos, dispersos por quasi toda a superficie. Notaremos, sómente, as cerdas de comprimento excepcional que se implantam nos angulos formados pela reunião das quatro margens do segmento.

Segundo segmento approximadamente do mesmo comprimento que o primeiro e ligeiramente mais largo do que este, tendo um bordo anterior curvo e um posterior recto. A face superior apresenta numerosos pellos, implantados principalmente junto as margens lateraes e na zona mediana, e uma fila de longas cerdas ao longo da margem posterior.

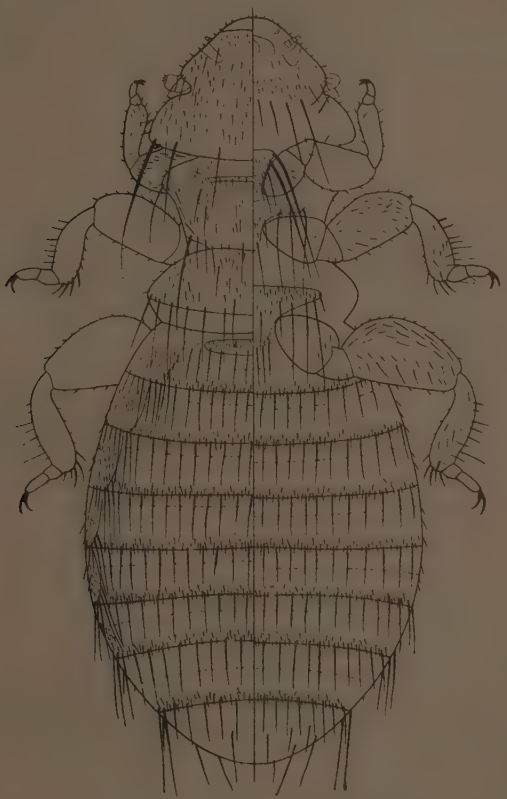


Fig. 117 — *Trimenopon townsendi*, macho.

Na face inferior do thorax ha tres placas esternaes, de contornos mal definidos. As duas primeiras, correspondentes ao pró e mesothorax, quasi se tocam; a ultima se encontra consideravelmente afastada da mediana. Todas ellas teem, além de pequenos pellos irregularmente dispostos, grandes cerdas nas margens lateraes, formando filas orientadas de deante para traz e de fóra para dentro.

Membros thoracicos da mesma fórma, porém de tamanho gradativamente crescente de deante para traz. Os quadrís dos dois pares anteriores se avisinham, emquanto que os do par posterior se encontram bem afastados dos do par intermediario, em disposição analoga a acima referida para as placas esternaes.

Abdomen muito largo e oval. Nas faces superior e inferior deve-se notar que os segmentos typicos, em parte ligeiramente pigmentados, apresentam ao longo das margens posteriores uma fila de cerdas grandes, acompanhada duma outra, mais irregular, de pellos pequenos.

Os pleuritos, que variam de tamanho e se tornam menores e menos nitidos a medida que se approximam da extremidade posterior do abdomen, teem numerosos pellos pequenos espalhados em suas superficies e longas cerdas junto ás margens posteriores.

Fig. 118 — *Trimenopon townsendi*, cabeça da femea.

Junto ás margens abdominaes ha cinco pares de estigmas respiratorios.

Genitalia fig. 119 representada por dois pequenos gonopodos, com grande numero de pellos pequenos, situados junto ás bordas do abdomen e consideravelmente afastados da linha mediana.

Macho (fig. 117). Comprimento: 1.96 mm.

Sem nunhum caracter sexual secundario.

A genitalia é de estudo e interpretação muito difficil. Parece-nos formada duma grande placa basal, cujos ramos terminaes se bifurcam. Nos ramos externos se articulam os parameros, curtos, largos e recurvados. Ha uma peça impar, em fórma de U, que acreditamos ser o penis. Quando a genitalia se encontra recolhida ao abdomen, as extremidades desta peça ficam juntas ás dos ramos internos resultantes da bifurcação dos ramos terminaes da placa

basal. Outras formações, mal definidas, parecem depender da vesicula penis. É de crêr que a genitalia distendida permitta melhor estudo. Não nos foi dado, porém, obter um unico exemplar em que este orgão se apresentasse nestas condições. Reproduzimos na fig. 120, que bem representa seu aspecto geral, o que nos foi possivel observar.

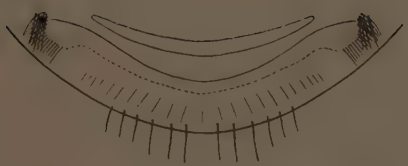


Fig. 119 — *Trimenopon townsendi*, genitalia da fêmea.

Fig. 120 — *Trimenopon townsendi*, genitalia do macho.

Nota: — Esta especie foi, originariamente, descripta como pertencente ao novo genero *Philandesia*, creado na mesma occasião. Os que o admittirem, deverão consideral-a especie typo do genero, no qual serão ainda incluidos *T. mazzai*, *T. chinchillae* e *T. foxi*, este ultimo encontrado em hospedador norte-americano.

## Genero **Harrisonia** Ferris

1922 — *Harrisonia*, Ferris, Parasitology, vol. 14, pags. 80-81.

Diagnose: Mallophaga da familia *Trimenoponidae*, apresentando nas margens da cabeça, profundas reentrancias. Temporas extraordinariamente salientes, tendo nas extremidades, em angulo agudo, ganchos

fortes e intensamente chitinisados. Lobulos antero-lateraes da cabeça muito desenvolvidos, com as pontas finas voltadas para traz, em fórma de gancho. Na face inferior, junto aos primeiros segmentos antennaes, não se encontram espinhos grandes e robustos. Região clypeal não limitada por uma sutura distincta.

ESPECIE TYPO: — *Harrisonia uncinata* Ferris.

### 1. **Harrisonia uncinata** Ferris

1922 — *Harrisonia uncinata*, Ferris, Parasitology, vol. 14, pags. 81-83, figs. 2C, 3C, 4D e 6.

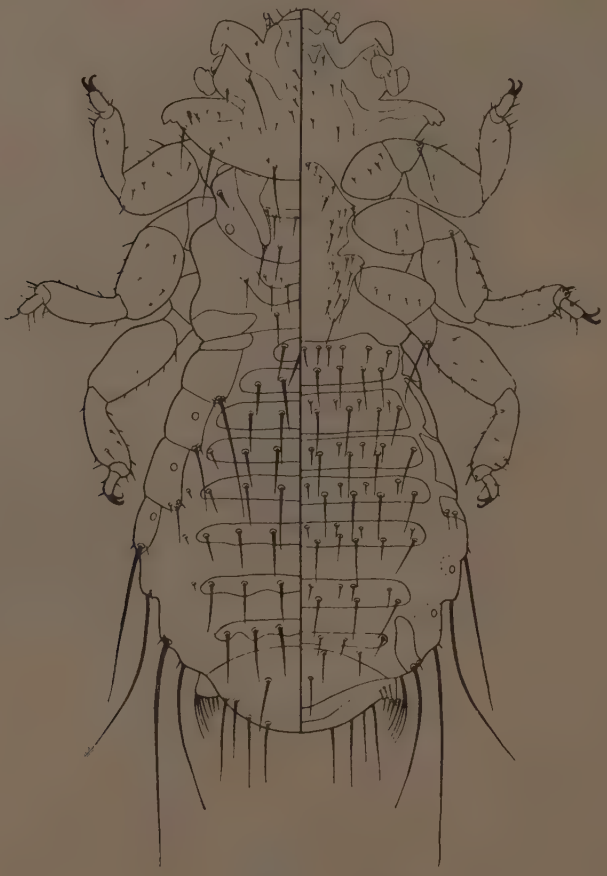


Fig. 121 — *Harrisonia uncinata*, femea.

HOSPEDADOR TYPO: *Hoplomys gymnurus*, de San Javier, Ecuador.

Esta especie foi descripta de exemplares colhidos em diversos hospedadores, não tendo o autor declarado qual delles considerava como hospedador typo. A descripção mais minuciosa, assim como a maior parte dos desenhos, incluindo os que melhor fazem conhecer a especie, foram feitos de especimens colhidos no hospedador acima referido. Estas razões parecem justificar a escolha que agora fazemos.

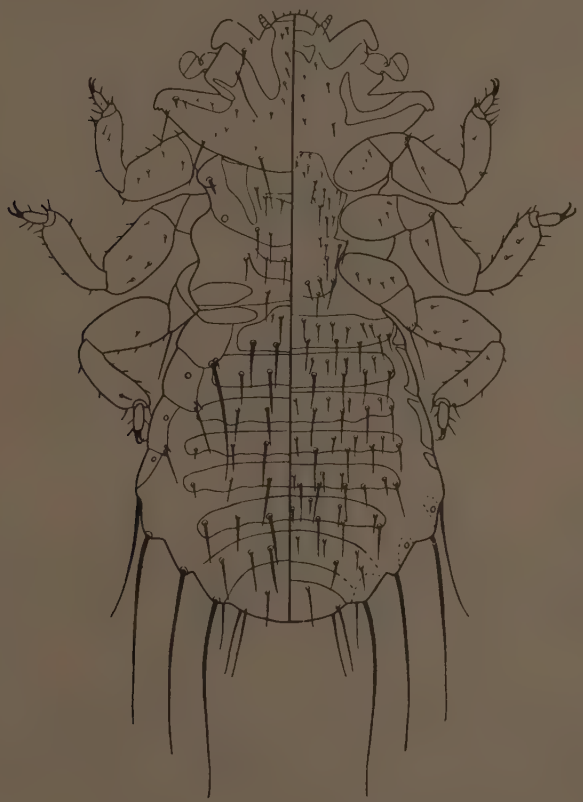


Fig. 122 — *Harrisonia uncinata*, macho.

HOSPEDADORES OUTROS: — A especie foi ainda encontrada, pelo seu proprio autor, em *Nelomys mirae* e *Proechimys semispinosus*, provenientes, como o hospedador typo, de San Javier, norte do Ecuador.

Especimens examinados: — Uma femea, dois machos e uma fórma immatura, encontrados em pelle de *Hapale santaremensis* (Rio Tapajoz, Pará, Brasil), pertencente ao Museu Nacional do Rio de Janeiro e provavelmente resultantes de contaminação accidental.

Descripção: — Femea (fig. 121). Comprimento: 0.93 mm.

Cabeça (fig. 123) larga e curta, com a primeira destas dimensões approximadamente duas vezes maior que a segunda, temporas muito salientes, em angulo agudo e tendo nas extremidades uma formação, irregular, fortemente chitinisada e com extraordinario desenvolvimento dos lobulos antennaes, cuja extremidade fina tem a fórma dum gancho voltado para baixo. O bordo anterior é pequeno e arredondado. O occipital, juntamente com as margens temporaes posteriores, descrevem uma curva de grande raio.

Na face superior existem grandes zonas escuras de espessamento accentuado do tegumento, sendo que as maiores formam duas grandes pontas,

Fig. 123 — *Harrisonia unctnata*, cabeça da femea.

uma de cada lado, dirigidas de deante para traz e de fóra para dentro, tendo como origem os angulos formados pela reunião da margem anterior com os lobulos antennaes. Outras, menores, se encontram nas margens dos sinus antennaes. Na mesma face ha, ainda, a considerar um certo numero de espinhos fortes, cerdas longas e pequenos pellos, cuja disposição pode ser vista na fig. 123.

Na face inferior se encontram faixas escuras ao longo da margem anterior da cabeça e em torno aos seios antennaes, estas ultimas curvadas em angulo ligeiramente obtuso. O numero e o tamanho das cerdas e pellos é menor que na face superior e os espinhos faltam por completo.

Os palpos maxillares, formados de quatro articulos, são longos e finos e se implantam junto as margens da cabeça.

As antennas, com quatro segmentos, teem o aspecto representado na fig. 123 e, devido a fórma do terceiro articulo, apresentam a particularidade de terem as extremidades recurvadas em angulo recto.

Thorax grande, apparentemente formado de dois unicos segmentos devido a reunião do pró e mesothorax. Na face superior ha algumas zonas de

maior chitinisação e notadamente duas grandes placas alongadas e orientadas de deante para traz, a partir do bordo anterior do prothorax. Ainda nesta face deve-se notar dois espinhos situados por deante dos estigmas respiratorios e algumas cerdas maiores, dispostas como se acha representado na fig. 121. Na face inferior se encontram, esboçadas, as placas esternaes, bordadas de pequenos pellos.

Membros thoracicos com os caracteres proprios ao genero.

Abdomen largo e curto, tendo de comprimento pouco mais de metade do comprimento total do insecto, com as margens lateraes onduladas e guarnecidas, na metade anterior, de placas pleuraes bem delimitadas. Ambas as faces apresentam placas chitinisadas, bordadas de cerdas e dispostas transversalmente, correspondendo aos tergitos e esternitos abdominaes. As da face superior, em numero de oito, tem as cerdas em fila simples, emqanto que as sete da face ventral possuem duas filas, uma anterior formada de pellos pequenos e outra posterior de cerdas equivalentes, em tamanho, ás encontradas nos tergitos. Os segmentos typicos possuem, ainda, em cada pleurito uma longa cerda. Nos da metade posterior do abdomen, estas são marginaes; nos outros, encontram-se na face superior, implantadas nos angulos posteriores das placas pleuraes.

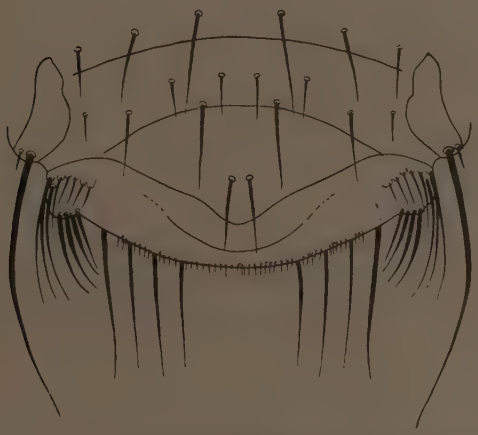


Fig. 124 — *Harrisonia uncinata*, genitalia da femea.

Fig. 125 — *Harrisonia uncinata*, genitalia do macho.

Genitalia (fig. 124) formada de dois pequenos gonopodos, bordados de cerdas, consideravelmente afastados um do outro.

Macho (fig. 122). Comprimento: 0.79 mm.

Sem caracter sexual secundario.

Genitalia representada na fig. 125.

Genero **Cummingsia** Ferris.

1922 — *Cummingsia,* Ferris, Parasitology, vol. 14, pag. 83.
1922 — *Acanthomenopon,* Harrison, Austral. Zool., vol. 2, pag. 156..

DIAGNOSE: — Mallophaga da familia *Trimenoponidae*, com as margens da cabeça lisas ou ligeiramente escavadas. Na face inferior, junto ás bases das antennas se encontram dois pares de espinhos grandes, intensamente chitinisados e voltados para traz. Região clypeal não limitada por uma sutura distincta.

ESPECIE TYPO: — *Cummingsia maculata* Ferris.

### 1. **Cummingsia maculata** Ferris

1922 — *Cummingsia maculata,* Ferris, Parasitology, vol. 14, pags. 83-84, figs. 2e, 3d, 4e, 7.

HOSPEDADOR TYPO: — *Caenolestes* sp., das ruinas de Cedrobamba, Perú.

NOTA: — Não nos foi dado examinar especimen algum desta especie, cujo estudo publicado por Ferris permitte reconhecer com facilidade.

### 2. **Cummingsia peramydis** Ferris

1922 — *Cummingsia peramydis,* Ferris, Parasitology, vol. 14, pags. 85-86, figs. 2d, 3e, 4e, 8.
1922 — *Acanthomenopon horridum,* Harrison, Austral, Zool., vol. 2, pag. 156-158, figs. 1c, 2.

HOSPEDADOR TYPO: — *Peramys domesticus*, de Quixadá, Ceará, Brasil.

NOTA: — Esta especie, a unica assignalada no Brasil de que não conseguimos obter especimens para exame, foi muito bem descripta por Ferris, o que a torna facil de reconhecer, e 17 dias depois por Harrison, de material colhido no mesmo hospedador, proveniente do Pará e da Bahia.

## Familia **Boopidae** Mjöberg

1910 — *Boopidae,* Mjöberg, Arkiv för Zoologi, vol. 6, n.º 13, pag. 21.
1916 — *Boopidae,* Harrison & Johnston, Parasitology, vol. 8, pag. 339.
1916 — *Boopidae,* Harrison, Parasitology, vol. 9, pag. 27.
1919 — *Boopidae,* Mjöberg, Entomologisk Tidskrift, pag. 94.

DIAGNOSE: — Mallophaga *Amblycera*, portanto com palpos maxillares e antennas com a extremidade distal dilatada, que podem se recolher em grandes cavidades existentes nas margens lateraes da cabeça. Antennas formadas de cinco segmentos de forma variavel. Olhos presentes. Pro e mesothorax bem distinctos. Tarsos de todos os membros com duas unhas. Seis pares de estigmas respiratorios nos segmentos 2-7.

(Uma formação peculiar á genitalia do macho, conhecida como *sacco accessorio*, foi considerada a principio caracteristica da familia, mas segundo Harrison & Johnston a maioria das especies não a possue).

DIVISÃO GENERICA: — Não comporta este trabalho estudo sobre a divisão generica da familia *Boopidae*, peculiar aos marsupiaes australianos, á qual nos referimos sómente devido a adaptação duma de suas especies ao cão domestico, tornando-a cosmopolita. Acreditamos que alguns dos generos propostos devam ser supprimidos em vista do valôr duvidoso de seus caracteres, mas pelo motivo exposto, deixamos de fazel-o. O interessado no assumpto, encontrará os dados necessarios na bibliographia acima citada e uma chave no «Manual of External Parasites» de Ewing (pag. 99. A partir do n.º 24).

DISTRIBUIÇÃO: — Como foi dito a familia *Boopidae* é, sem duvida, propria a fauna australiana. A presença de uma especie (*Boopia peregrina*) num mustelideo da India deve ser tida como casual e a disseminação do *Heterodoxus longitarsus* attribuida á contaminação, facilitada por condições desconhecidas de adaptabilidade.

## Genero **Heterodoxus** Le Souëf & Bullen

1902 — *Heterodoxus,* Le Souëf & Bullen, Victorian Naturalist, vol. 18, pag. 159.
1908 — *Heterodoxus,* Kellogg, Genera Insectorum, fasc. 66, pags. 75-76.
1912 — *Heterodoxus,* Paine, Entomological News, vol. 23, pags. 360-361.
1915 — *Heterodoxus,* Kellogg & Ferris, The Anoplura and Mallophaga of North American Mammals, pags. 66.
1916 — *Heterodoxus,* Harrison & Johnston, Parasitology, vol. 8, pag. 252.
1916 — *Heterodoxus,* Harrison, Parasitology, vol. 9, pag. 30.
1929 — *Heterodoxus,* Ewing, Manual of External Parasites, pags. 102-103.

DIAGNOSE: — Mallophaga da familia *Boopidae*, com palpos maxillares formados por quatro articulos e fossas antennaes cobertas pela face superior da cabeça. Junto aos palpos se encontram duas grandes saliencias, em fórma de espinho, voltadas para traz. Os tres primeiros segmentos abdominaes têem, de cada lado, um pello sensorial proximo aos estigmas respiratorios, que neste genero estão situados nas extremidades das placas tergaes.

ESPECIE TYPO: — *Heterodoxus longitarsus* (Piaget).

### 1. **Heterodoxus longitarsus** (Piaget)

1880 — *Menopon longitarsus*, Piaget, Les Pediculines. pags. 504-506, pl. 41, fig. 7.
1902 — *Heterodoxus macropus*, Le Souëf & Bullen, Victorian Naturalist, vol. 18, pag. 159, fig. 11.
1908 — *Menopon longitarsus*, Kellogg, Genera Insectorum, fasc. 66, pag. 65.
1908 — *Heterodoxus macropus*, Kellogg, Genera Insectorum, fasc. 66, pag. 76
1909 — *Menopon spiniger*, Enderlein, Denkschriften der medizinisch-naturwissenschaftlichen Gesellschaft zu Jena, vol. 14, pag. 80, pl 8, figs. 4-5.
1912 — *Menopon (Menacanthus) longitarsus*, Neumann, Archives de Parasitologie, vol. 15, pags. 359-360, fig. 5.
1912 — *Menopon (Menacanthus) spinigerum*, Neumann, Archives de Parasitologie, vol. 15, pags. 364-365, fig. 12.
1912 — *Heterodoxus armiferus*, Paine, Entomological News, vol. 23, pag. 362, figs A, B, C, D.
1912 — *Heterodoxus macropus*, Paine, Entomological News, vol. 23, pag. 361, figs. E, F. G.
1913 — *Heterodoxus longitarsus*, Cummings, Bulletin of Entomological Research, vol. 4, pag. 44.
1913 — *Heterodoxus longitarsus*, Johnston & Harrison, Proceedings of the Royal Society of Queensland, vol. 24, pag. 13.
1915 — *Heterodoxus longitarsus*, Kellogg & Ferris, The Anoplura and Mallophaga of North American Mammals, Leland Stanford Junior University Publications, University Series, pag. 67.
1916 — *Heterodoxus longitarsus*, Harrison & Johnston, Parasitology, vol. 8, pags. 353-354, figs. 4, 10, 11.
1916 — *Heterodoxus longitarsus*, Harrison, Parasitology, vol. 9, pag. 30.

HOSPEDADOR TYPO: — *Halmaturus giganteus*.

HOSPEDADORES OUTROS: Grande numero de especies do genero *Macropus*, no qual deve ser tambem incluido o hospedador-typo, foram assignaladas por Harrison & Johnston: *M. thetidis*, *M. ualabatus*, *M.*

*ruficolis*, *M. bennetti*, *M. dorsalis*, *M. rufus*, *M. robustus*, *M. wilcoxi*, e *M. stigmaticus*.

Além destes, que parecem ser os hospedadores naturaes da especie, devemos citar o cão domestico (*Canis familiaris*) que a apresenta commummente. Cummings refere-se, ainda, a exemplares colhidos num chacal da Somalilandia e em *Corone australis*, ave australiana da familia *Corvidae*. Este ultimo encontro deve ser tido como simplesmente casual, não sendo provavel que a especie possa parasitar hospedador de tal natureza, apezar de suas relações estreitas com os *Menoponidae*.

Especimens examinados: — Material abundante colhido em *Canis familiaris* de diversas regiões do Brasil, Argentina e Estados Unidos e numerosos exemplares, dos dois sexos, encontrados pelo Dr. Salvador Mazza em *Oncifelis salinarum*, de Jujuy, Argentina.

Descripção: — Femea (fig. 126). Comprimento: 2.65 mm.

Cabeça subtriangular, com a margem anterior arredondada e a posterior, de todas a maior, ligeiramente concava. Margens lateraes rectas, com profunda reentrancia, em fórma de fenda, dirigida para dentro e para traz. Alem de alguns pellos pequenos, junto as margens, ha na cabeça grandes cerdas e espinhos fortes dignos de referencia. Assim, deve-se notar na face superior, de cada lado: 1.º) — uma cerda implantada junto á fenda marginal e um espinho situado, ao mesmo nivel, entre esta e a linha mediana. 2.º) — um espinho junto ao olho e dois espinhos e uma cerda na região occipital. 3.º) — quatro espinhos pequenos e tres cerdas, duas das quaes particularmente longas, nos angulos temporaes. Na face inferior ha sómente dois pares de cerdas na segunda metade da cabeça, um anterior e outro posterior, e alguns pellos junto aos seios antennaes. Ainda nesta face, proximo aos palpos, se encontram duas grandes saliencias chitinosas, em fórma de ganchos, com as pontas voltadas para traz.

Temporas salientes. Seios antennaes grandes e cobertos pela face superior da cabeça, tendo portanto a abertura voltada para baixo. Palpos maxillares longos e delgados. Antennas relativamente curtas, formadas de segmentos de fórmas differentes. Olhos grandes, quadrangulares, situados na face superior, junto ás fendas marginaes.

Thorax mais comprido e estreito que a cabeça. Prothorax scutiforme, duas vezes mais largo do que longo, com as extremidades lateraes salientes e arredondadas e a posterior pontuda. A face superior deste segmento apresenta duas faixas pigmentadas longitudinaes, reunidas por uma faixa transversal, em cujas extremidades ha um grosso espinho. Deve-se notar, ainda, tres cerdas rijas nas margens lateraes e seis grandes pellos na borda posterior.

O meso e metathorax, embora nitidamente separados por sutura bem visivel, formam um conjuncto trapeziforme. Na face superior do primeiro ha um par de espinhos fortes; na do segundo, algumas cerdas longas e espinhos implantados como se acha representado na fig. 126.

A face inferior do thorax apresenta uma série de placas esternaes, correspondendo aos diversos segmentos thoracicos. A anterior, subtriangular, tem as margens lateraes guarnecidas de cerdas e espinhos grandes, além de outros menores em sua superficie. O mesoesternito se estende transversalmenté entre as margens lateraes do thorax e nelle se encontram, de cada lado, em fila longitudinal, quatro espinhos, dos quaes o ultimo é o mais robusto. A ultima placa, correspondente ao metathorax, em fórma de escudo, tem tres

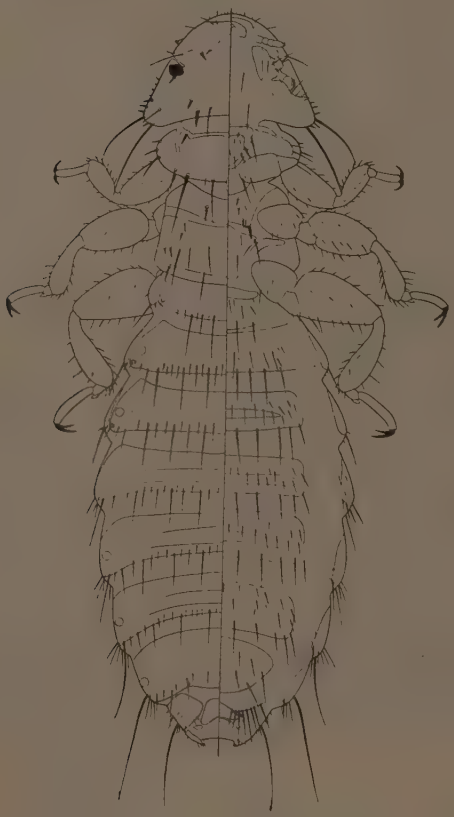


Fig. 126 — *Heterodoxus longitarsus*, femea.

Fig. 127 — *Heterodoxus longitarsus*, macho.

cerdas nas margens lateraes. Entre os quadrís medianos e posteriores ha uma faixa recurvada, resultante de maior espessamento do tegumento.

Membros do mesmo typo, com femures e tibias fortes e segundo segmento tarsal muito longo, mas de tamanho variavel: os do segundo par maiores que os anteriores e menores que os ultimos.

Abdomen longo e oval, de margens onduladas, tendo nos segmentos

typicos placas tergaes, pleuraes e esternaes. Os tergitos, que occupam toda a largura da face superior, teem ao longo da borda posterior uma fila de pellos, alguns curtos e outros longos. Esternitos menores, deixando entre as extremidades lateraes e as placas pleuraes um grande espaço de tegumento não espessado; ao longo das margens posteriores apresentam cerdas longas, do mesmo comprimento e em fila regular, e nas superficies pellos menores dispostos irregularmente. Nos pleuritos, implantadas tambem nos bordos posteriores, se encontram cerdas longas que ornam as margens lateraes do abdomen; á partir do quinto estigma estas cerdas adquirem consideravel desenvolvimento.

Seis pares de estigmas respiratorios situados nas extremidades dos ter-

Fig. 128 — *Heterodoxus longitarsus*, genitalia da femea.

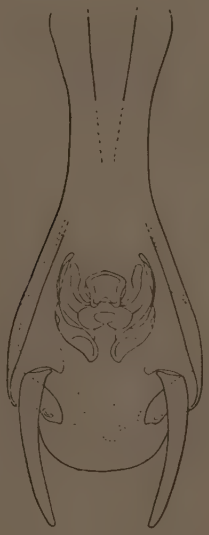


Fig. 129 — *Heterodoxus longitarsus*, genitalia do macho.

gitos, do segundo ao setimo segmento abdominal, constituindo curiosa particularidade. Nos primeiros segmentos ha, tambem nas extremidades das placas tergaes, tres pares de pellos sensoriaes que devem ser notados.

Região genital representada na fig. 128.

Macho (fig. 127). Comprimento: 2.42 mm.

Quasi igual a femea, da qual se distingue unicamente pelo abdomen mais curto, de extremidade posterior menos afilada e com maior numero de cerdas.

Genitalia constituida por uma grande placa basal, estrangulada no terço médio, de parameros delgados, ligeiramente curvos, e de formações complexas, dependentes da vesicula-penis, cujo aspecto representamos na fig. 129.

## Familia **Trichodectidae** Kellogg

1896 — *Trichodectidae*, Kellogg, New Mallophaga, parte I, pag. 60.
1908 — *Trichodectidae*, Kellogg, Genera Insectorum, fasc. 66, Mallophaga, pag. 6.
1916 — *Trichodectidae*, Harrison, Parasitology, vol. 9, pag. 68.

Diagnose: — Mallophaga *Ischnocera*, isto é, sem palpos maxillares e com antennas formadas por segmentos cylindricos ou subcylindricos ligados pelas bases, de modo a formar um todo filiforme. Estes orgãos, formados de tres ou cinco articulos se acham sempre expostos, pela ausencia de cavidades onde se possam occultar. Olhos presentes. Tarsos de todos os membros com uma unica unha.

Divisão generica: — Em 1896, Kellogg, elevando de categoria o genero *Trichodectes* de Nitzsch, creou a familia *Trichodectidae*, na qual incluia um só genero. Com o ulterior augmento do numero de especies e, sobretudo, pela apparente diversidade verificada entre ellas, a divisão da familia se tornou aconselhavel, quasi necessaria, e varios generos foram, então, propostos: *Damalinia* e *Eutrichophilus* por Mjöberg em 1910, *Eurytrichodectes* por Stobbe em 1913, *Bovicola*, *Felicola*, *Geomydoecus* e *Neotrichodectes* por Ewing em 1929 e *Tricholipeurus*, *Dasyonyx*, *Suricatoecus*, *Protelicola*, *Procavicola* e *Procaviphilus* por Bedford, o primeiro em 1929 e os demais em 1932.

Constituio preoccupação evidente dos autores acima citados, proceder a divisão dos *Trichodectidae* de modo tal que cada genero resultante correspondesse a um grupo bem definido de hospedadores. Assim o genero *Bovicola* comprehenderia os parasitos encontrados no bovideos. *Felicola* os de felinos, *Damalinia* os de antilopes, etc.

Entretanto, repudiamos as divisões propostas, reconhecendo embora as grandes vantagens que teria o fraccionamento do antigo genero *Trichodectes*, porque não se firmam em caracteres morphologicos de valor real, permittindo a caracterisação precisa dos novos generos. Ha, na realidade, entre as especies da familia *Trichodectidae*, algumas fórmas bem distinctas que poderiam servir para especies-typo de seus generos, mas entre estas existe uma serie de fórmas de transição, constituindo como uma cadeia continua onde não se encontra ponto favoravel para o fraccionamento. Nestas condições, este tem sido feito de modo arbitrario, o que nos parece altamente prejudicial. Preferimos esperar que alguem, mais feliz do que nós e nossos antecessores, consiga encontrar uma divisão generica aceitavel e, enquanto este desideratum não for attingido, dar ao genero *Trichodectes* seu primitivo sentido extenso.

Como justificativa podemos allegar a difficuldade em que se en-

contraria quem pretendesse determinar o genero duma especie da familia, se esta não fosse bastante caracteristica, e, como consequencia, a escolha arbitraria de determinado genero, de accôrdo com o criterio individual do classificador.

É curioso notar que as diagnoses originaes dos dois primeiros generos propostos — *Damalinia* e *Eutrichophilus* — publicadas por Mjöberg no mesmo trabalho, são praticamente iguaes e quem se der o trabalho de as analysar concluirá, certamente, que poderiam ser trocadas sem prejuizo algum.

Até a presente data não foi publicada uma chave com todos os generos propostos e as que conhecemos são incompletas, por serem antigas ou por incluir apenas generos existentes em determinadas regiões geographicas, o que as torna consideravelmente mais faceis de compôr. Mesmo assim mal preenchem seus fins e numerosas especies ha que poderiam ser incluidas em mais de um genero por quem dellas se utilisasse.

O que acabamos de expôr demonstra quanto é difficil encontrar divisão conveniente e racional para os *Trichodectidae*, difficuldade esta experimentada por alguns dos mais notaveis especialistas. A titulo de exemplo citamos Cummings e Ferris:

« Before *Damalinia* and *Eutrichophilus* were split off in 1910 by Mjöberg, the old genus *Trichodectes* was simply a miscellany, which still requires breaking up into genera — a by no means easy task, on account of the difficulty in finding convincing characters. In view of a future revision of the family, attention is drawn to the probable value of the male genitalia systematically » (Cummings, Proceedings of the Zoological Society of London, 1916, pag. 283).

« No careful study of the entire family has ever been made. Consequently, although it is possible to recognize groups of species, it is not possible at present to indicate generic groupings with any feeling of security. Certain genera have indeed been segregated from *Trichodectes* but on very inconvincing grounds. Two genera, however, *Trichophilopterus* and *Eurytrichodectes*, are inquestionably valid » (Ferris, The African Republic of Liberia and the Belgian Congo, ed. por Strong, 1930, pag. 1024).

O ultimo trecho acima citado, nos mostra que Ferris mantinha duvidas, em 1930, quanto a validade dos generos creados por Mjöberg em 1910 e adoptados por Cummings. Dos que admittia como inquestionavelmente validos, um — *Trichophilopterus* — deve ser incluido na familia *Philopteridae*, de accôrdo com Stobbe ou constituir nova fa-

milia — *Trichophilopteridae* — como deseja Mjöberg e recentemente (1933) Ferris; o outro — *Eurytrichodectes* — é formado duma só especie estreitamente relacionada com especies de outros generos, como o proprio autor reconhece. A respeito de *Eurytrichodectes paradoxus*, diz Ferris:

« While the species appears at first glance very peculiar and certainly should be separated generically from *Trichodectes*, I am inclined to believe that it is actually not so remote from some of the species here dealt with. It impresses me as belonging to the same stock as do some of the other species infesting the *Procaviidae* » (Ferris, loc. cit., pag. 1026).

Distribuição: — As especies da familia *Trichodectidae* parasitam mammiferos de quasi todas as ordens: Primata, Carnivora, Rodencia, Ungulata, Edentata, etc.

Sua distribuição geographica abrange todos os continentes.

## Genero **Trichodectes** Nitzsch

1818 — *Trichodectes*, Nitzsch, Magazin der Entomologie de Germar, vol. 3, pags. 294-295.
1838 — *Trichodectes*, Burmeister, Handbuch der Entomologie, vol. 12, pag. 435.
1842 — *Trichodectes*, Denny, Monographia Anoplurorum Britanniae, pag. 186.
1844 — *Trichodectes*, Gervais, Histoire Naturelle des Insectes de Walkenaer, Aptères, vol. 3, pags. 310-311.
1849 — *Trichodectes*, Gervais, Historia fisica y politica de Chile, de Claudio Gay, Zoologia, vol. 4, pags. 101-102.
1874 — *Trichodectes*, Giebel, Insecta Epizoa, pags. 51-52.
1880 — *Trichodectes*, Piaget, Les Pediculines, pags. 379-381.
1882 — *Trichodectes*, Taschemberg, Die Mallophagen etc., Nova Acta, vol. 44, n.º 1, pags. 200-205.
1895 — *Trichodectes*, Railliet, Traité de Zoologie Médicale et Agricole, 2.ª ed., pag. 835.
1908 — *Trichodectes*, Kellogg, Genera Insectorum, fasc. 66, pag. 6.
1910 — *Damalinia*, Mjöberg, Arkiv för Zoologi, vol. 6, n.º 13, pags. 69-71.
1910 — *Eutrichophilus*, Mjöberg, Arkiv för Zoologi, vol. 6, n.º 13, pags. 71-72.
1910 — *Trichodectes*, Mjöberg, Arkiv för Zoologi, vol. 6, n.º 13, pag. 63.
1913 — *Eurytrichodectes*, Stobbe, Entomologische Rundschau, pag. 111.
1913 — *Eutrichophilus*, Stobbe, Entomologische Rundschau, pag. 112.
1913 — *Eutrichophilus*, Stobbe, Deutsche Entomologische Zeitschrift, pag. 562.
1915 — *Trichodectes*, Kellogg & Ferris, The Anoplura and Mallophaga of North American Mammals, pag. 57.
1928 — *Damalinia*, Bedford, Rep. of the Director of Vet. Research of South Africa, vol. 13-14, pags. 848-849.

1929 — *Bovicola,* Ewing, Manual of External Parasites, pag. 193.
1929 — *Felicola,* Ewing, Manual of External Parasites, pags. 192-193.
1929 — *Geomydoecus,* Ewing, Manual of External Parasites, pags. 193-194.
1929 — *Neotrichodectes,* Ewing, Manual of External Parasites, pag. 194.
1929 — *Bovidoecus,* Bedford, 15th. Annual Report of the Director of Veterinary Services, pags. 518-519.
1929 — *Felicinia,* Bedford, 15th. Annual Report of the Director of Veterinary Services, South Africa, pag. 519.
1929 — *Tricholipeurus,* Bedford, 15th. Annual Report of the Director of Veterinary Services, South Africa, pag. 514.
1932 — *Eurytrichodectes,* Bedford, Proc. of Zool. Soc. of London, pag. 711.
1932 — *Felicola,* Bedford, Parasitology, vol. 24, pags. 356-357.
1932 — *Protelicola,* Bedford, Parasitology, vol. 24, pags. 354-355.
1932 — *Suricatoecus,* Bedford, Parasitology, vol. 24, pag. 354.
1932 — *Trichodectes,* Bedford, Parasitology, vol. 24, pag. 353.
1932 — *Procavicola,* Bedford, Proc. of the Zool. Soc. of London, pags. 711-712.
1932 — *Procaviphilus,* Bedford, Proc. of the Zool. Soc. of London, pag. 725.

DIAGNOSE: — O genero *Trichodectes, sensu latu,* tal como o consideramos aqui, deve ser definido do mesmo modo que a familia *Trichodectidae.*

ESPECIE TYPO: — *Trichodectes canis* (De Geer).

CHAVE PARA DETERMINAÇÃO DAS ESPECIES DO GENERO *TRICHODECTES* REFERIDAS NESTE TRABALHO.

| | | |
|---|---|---|
| 1 | Sem estigmas respiratorios abdominaes | 2. |
| 1' | Com estigmas respiratorios abdominaes | 6. |
| 2 (1) | Pleuritos anteriores e posteriores espessados e pigmentados, formando placas pleuraes | *T. gastrodes.* |
| 2' | Abdomen inteiramente membranoso, sem vestigios de placas pigmentadas nos tergitos, pleuritos ou esternitos | 3. |
| 3 (2') | Pseudo-penis em Y e placa endomeral bifurcada na extremidade distal. Bordo interno das gonapophyses sem pellos ou com alguns quasi invisiveis | 4. |
| 3' | Pseudo-penis em V e placa endomeral triangular, não bifurcada na extremidade distal. Bordo interno das gonapophyses com grande numero de cerdas longas | *T. barbarae.* |
| 4 (3) | Ramos terminaes da placa endomeral mais longos que o ramo posterior do pseudo-penis. Gonapophyses inteiramente privadas de pellos | *T. pallidus.* |

| | | |
|---|---|---|
| 4' | Ramos terminaes da placa endomeral mais curtos que o ramo posterior do pseudo-penis. Gonapophyses com pequenos pellos num lobulo da borda interna | 5. |
| 5 (4') | Ramos terminaes da placa endomeral com as extremidades afastadas | *T. interrupto-fasciatus.* |
| 5' | Ramos terminaes da placa endomeral com as extremidades em contacto | *T. wolffhügeli.* |
| 6 (1') | Com menos de 6 pares de estigmas abdominaes | 7. |
| 6' | Com 6 pares de estigmas abdominaes | 9. |
| 7 (6') | Machos com 2 e femea com 3 pares de estigmas abdominaes | *T. potus.* |
| 7' | Macho e femea com 3 pares de estigmas abdominaes | 8. |
| 8 (7') | Região pré-antennal curta e arredondada. Abdomen com cerdas longas, normaes | *T. octomaculatus.* |
| 8' | Região pré-antennal longa e triangular. Abdomen com alguns pellos muito curtos | *T. subrostratus.* |
| 9 (6') | Região pré-antennal larga e curta, limitada por margem arredondada, embora as vezes ligeiramente achatada ou reentrante na extremidade anterior | 10. |
| 9' | Região pré-antennal mais longa, nitidamente limitada por duas margens antero-lateraes, de fórma polygonal, seja triangular ou trapezoidal | 17. |
| 10 (9) | Abdomen inteiramente membranoso, sem vestigios de placas pigmentadas nos tergitos, pleuritos e esternitos | *T. canis.* |
| 10' | Abdomen com placas pigmentadas nos tergitos, pleuritos ou esternitos de um ou mais segmentos | 11. |
| 11 (10') | Esternitos abdominaes sem placas pigmentadas. Tergitos abdominaes, da femea, com pequenas placas pigmentadas nos ultimos segmentos. Comprimento do abdomen quasi igual a sua largura maxima, na femea como no macho | *T. galictidis.* |
| 11' | Esternitos abdominaes com grandes placas intensamente pigmentadas. Tergitos abdominaes da femea com placas escuras e grandes em todos os segmentos. Comprimento do abdomen da femea maior, pelo menos, vez e meia, que sua largura maxima | 12. |
| 12 (11') | Margem interna das gonapophyses praticamente rectas, sem nenhuma saliencia ou lobulo | *T. equi.* |

| | | |
|---|---|---|
| 12' | Margem interna das gonapophyses com accentuada saliencia ou lobulo | 13. |
| 13 (12') | Antennas delgadas; iguaes nos dois sexos | 14. |
| 13' | Antennas differentes. As do macho robustas e recurvadas; com o primeiro articulo consideravelmente maior e mais forte que o segmento correspondente da femea e com dois espinhos na extremidade do 3.º segmento | 16. |
| 14 (13) | Segmento abdominal do macho, em que se encontra o 1.º par de estigmas, com a margem posterior fortemente reentrante | *T. limbatus.* |
| 14' | Segmento abdominal do macho, em que se encontra o 1.º par de estigmas, com a margem posterior normal | 15. |
| 15 (14') | Cabeça com grande numero de pequenos pellos em toda a superficie da face superior. Cerdas em toda a extensão da margem interna das gonapophyses | *T. bovis.* |
| 15' | Cabeça com raros pellos pequenos na face superior; quasi todos na região temporal. Cerdas unicamente no lobulo existente na margem interna das gonapophyses | *T. caprae.* |
| 16 (13') | Especie densamente guarnecida de pellos curtos. Placa basal 8 a 9 vezes mais longa que os parameros | *T. ovis.* |
| 16' | Especie pouco pillosa. Pellos de comprimento médio. Placa basal quasi tão longa quanto os parameros | *T. breviceps.* |
| 17 (9') | Extremidade anterior da cabeça com uma profunda reentrancia em fórma de U. Parte posterior da cabeça muito larga ao nivel dos olhos e com margens lateraes fortemente convergentes | 18. |
| 17' | Extremidade anterior da cabeça achatada ou levemente concava. Parte posterior da cabeça não dilatada ao nivel dos olhos; de margens parallelas | 19. |
| 18 (17) | Antennas da femea apparentemente com 5 segmentos. Sem saliencias chitinosas, em fórma de gancho, na extremidade anterior da cabeça | *T. semiarmatus.* |
| 18' | Antennas da femea com 3 unicos segmentos. Duas grandes saliencias chitinosas, em fórma de gancho, junto á reentrancia da extremidade anterior da cabeça | *T. armatus.* |
| 19 (17') | Pleuritos não espessados e totalmente despigmentados | 20. |
| 19' | Pleuritos espessados, pigmentados, formando placas pleuraes | 21. |

| | | |
|---|---|---|
| 20 (19) | Região pré-antennal curta, triangular. Abdomen oval, tendo de comprimento mais ou menos sua largura maxima | *T. felis.* |
| 20' | Região pré-antennal longa, subtrapezoidal. Abdomen estreito e longo, de margens parallelas, tendo de comprimento pelo menos duas vezes sua largtra maxima | *T. albimarginatus.* |
| 21 (19') | Genitalia do macho com pseudo-penis em V e placa endomeral bifurcada | *T. dorcelaphi.* |
| 21' | Genitalia do macho sem estes caracteres | 22. |
| 22 (21') | Gonapophyses grandes, com as extremidades em contacto, quando colladas ao abdomen. Macho pequeno: approximadamente com 1.6 mm. Comprimento do abdomen igual a metade do comprimento total | *T. minor.* |
| 22' | Gonapophyses menores, sem se tocar quando colladas ao abdomen. Machos grandes; com muito mais de 2 mm. Comprimento do abdomen muito maior que a metade do comprimento total | 23. |
| 23 (22') | Placa basal tão longa quanto os parameros | *T. cordiceps.* |
| 23' | Placa basal tres vezes mais longa que os parameros | *T. cercolabes.* |

## 1. **Trichodectes canis** (De Geer)

1778 — *Ricinus canis,* De Geer, Mémoires pour servir à l'histoire des Insectes, VII, Des Ricins, pag. 81, pl. 4, fig. 16.

1818 — *Trichodectes latus,* Nitzsch, Magazin der Entomologie de Germar, vol. 3, pag. 296.

1838 — *Trichodectes latus,* Burmeister, Handbuch der Entomologie, vol. 2, pag. 436.

1842 — *Trichodectes latus,* Denny, Monographia Anoplurorum Britanniae, pag. 61 e 188, pl. XVII, fig. 1.

1842 — *Trichodectes latus,* Gurlt, Mag. f. d. ges. Thierheilkunde, vol. IX, pl. 1, fig. 1

1844 — *Trichodectes latus,* Gervais, Histoire Naturelle des Insectes de Walkenaer, Aptères, vol. 3, pag. 312.

1852 — *Trichodectes octopunctatus,* Leach, *in* Denny, List of specimens of British animals in the collection of the British Museum, Pt. XI, Anoplura, pag. 29.

1857 — *Trichodectes latus,* Gurlt, Archiv für Naturgeschichte, vol. 23, pag. 279.

1861 — *Trichodectes latus,* Giebel, Zeitschr. f. ges. Naturwiss., XVII, pag. 89, pl. 1, figs. 7 e 8.

1874 — *Trichodectes latus,* Giebel, Insecta Epizoa, pags. 53-54, pl. 3, figs. 2 e 3.

1878 — *Trichodectes latus,* Gurlt, Archiv für Naturgeschichte, vol. 44, pag. 163
1880 — *Trichodectes latus,* Piaget, Les Pediculines, pags. 384-385, pl. XXXI, fig. 6.
1891 — *Trichodectes latus,* Osborn, Bull. n.º 7, Div. of Entomology, U. S. Dept. of Agriculture, pag. 43, fig. 32.
1892 — *Trichodectes latus,* Neumann, Traité de Maladies Parasitaires non Microbiennes des Animaux Domestiques, 2.ª ed., pags. 70-71, fig. 38.
1895 — *Trichodectes canis* ou *T. latus,* Railliet, Traité de Zoologie Medicale et Agricole, 2.ª ed., pag. 837, fig. 580.
1896 — *Trichodectes latus,* Osborn, Bul. 5, (n. s.), Div. of Entomology, U. S. Dept. of Agriculture, pags. 203-204, fig. 127, e pag. 236.
1903 — *Trichodectes latus,* Morse, The American Naturalist, vol. 37, pags. 622-623, fig.
1908 — *Trichodectes latus,* Kellogg, Genera Insectorum, fasc. 66, pag. 7.
1910 — *Trichodectes latus,* Mjöberg, Arkiv för Zoologi, vol. 6, n.º 13, pag. 63
1912 — *Trichodectes canis,* Neveu-Lemaire, Parasitologie des Animaux Domestiques, pags. 1107-1108, fig. 742
1913 — *Trichodectes riveti,* Neumann, Archives de Parasitologie, vol. XV, pags. 614-616, figs. 7 e 8.
1913 — *Trichodectes canis,* Stobbe, Sitzungsberichte der Gesellschaft Naturforschender Freunde, pag. 369.
1914 — *Trichodectes latus,* Kellogg, The American Naturalist, vol. 48, pag. 268.
1915 — *Trichodectes latus,* Kellogg & Ferris, The Anoplura and Mallophaga of North American Mammals, Leland Stanford Junior University Publications, University Series, pag. 58.
1916 — *Trichodectes latus,* Cummings, Proc. of the Zool. Soc. of London, pags. 271-272, fig. 10.
1916 — *Trichodectes canis,* Harrison, Parasitology, vol. 9, pag. 69.
1916 — *Trichodectes riveti,* Harrison, Parasitology, vol. 9, pag. 72.
1917 — *Trichodectes floridanus,* Mc Gregor, Annals of the Entomological Society of America, vol. 10, pags. 168-169, pl. XVI, figs. 3 e 5.
1924 — *Trichodectes canis,* Séguy, Les Insectes Parasites de l'Homme et des Animaux Domestiques, pag. 46, fig. 30.
1932 — *Trichodectes canis,* Bedford, Parasitology, vol. 24, pag. 353.
1934 — *Trichodectes ? canis,* Thompson, Canadian Entomologist, vol. 46, pag. 280.

HOSPEDADOR TYPO: — *Canis familiaris.*

HOSPEDADORES OUTROS: — Além do hospedador typo, referido por quasi todos os autores, Stobbe assignalou o *Trichodectes canis* em *Canis lupus* da Russia e num *Nyctereutes procyonoides* do jardim zoologico e Cummings em *Canis latrans* existente no Jardim Zoologico de Londres. Neumann o encontrou em *Canis magellanicus* e o descreveu com o nome de *Trichodectes riveti,* na supposição de ser uma nova especie.

Recentemente foi achado, por Thompson, em *Canis lycaon* do Canadá.

ESPECIMENS EXAMINADOS: — Duas femeas e dois machos montados em uma lamina da collecção Neumann, muito gentilmente enviada pelo Prof. A. Martin, da Escola Nacional Veterinaria de Toulouse, tendo nos rotulos as seguintes indicações: « *Trichodectes riveti*, Sur *Speothos riveti* Trt., Equateur, Trouessart, 1906 ».

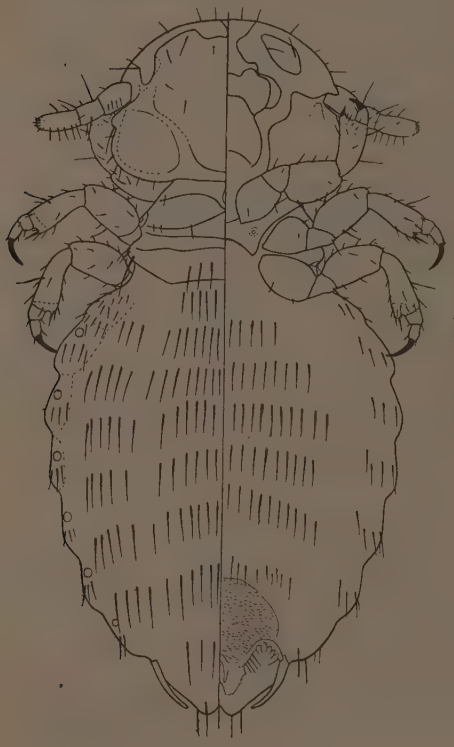


Fig. 130 — *Trichodectes canis*, femea.

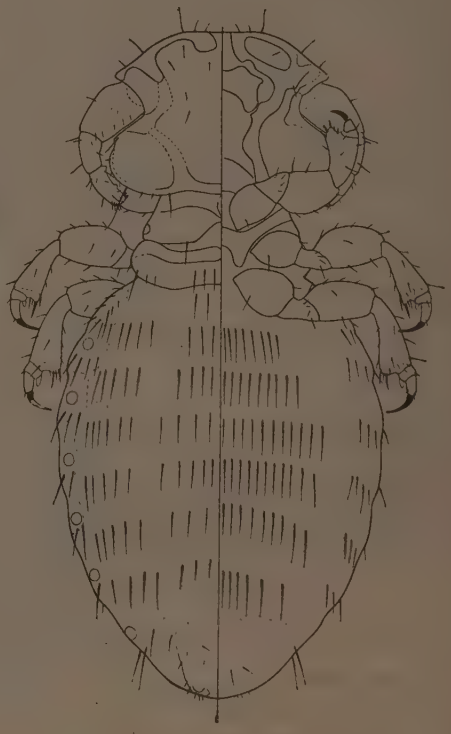


Fig. 131 — *Trichodectes canis*, macho.

Grande numero de exemplares, de ambos os sexos, colhidos em cão domestico em diversas localidades do Brasil (Districto Federal, São Paulo. Matto Grosso), em França (Alfort) e na Allemanha (Königsberg).

Uma femea proveniente de *Canis latrans*, do Jardim Zoologico de Londres, enviada por G. B. Thompson, do Museu Britannico.

Numerosos exemplares, de ambos os sexos, colhidos em *Canis cancrivorus*, capturados em varias localidades do Brasil.

Devemos notar que estes hospedadores não estiveram em captiveiro, tendo sido caçados em plena mata, e apresentavam as maiores infestações que já observamos.

DESCRIPÇÃO: — Femea (fig. 130). Comprimento: 1.92 mm.

Cabeça fig. 132 bem mais larga do que longa, com a margem anterior em curva de grande raio, que se estende duma antenna á outra. Temporas arredondadas: não salientes. Bordo occipital recto. Na face superior, além das faixas espessadas do tegumento encontradas ao longo das margens da cabeça, ha duas outras que ligam o occipital aos seios antennaes. Estas faixas apresentam pontos de chitinisação mais intensa, formando oito manchas escuras: quatro na borda anterior, sendo duas junto á linha mediana e duas nas extremidades lateraes, duas outras junto a implantação das antennas e as restantes no bordo occipital. As faixas correspondentes da face inferior são mais irregulares e mais largas, principalmente a que se encontra na margem anterior da cabeça.

Pellos raros e pequenos, não apresentando interesse na caracterisação da especie.

Fig. 132 — *Trichodectes canis*, cabeça da femea.

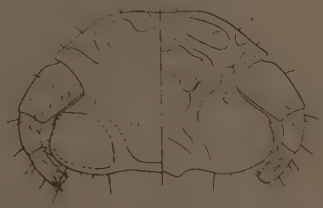


Fig. 133 — *Trichodectes canis*, cabeça do macho.

As antennas se implantam em pequenas fossas, situadas em meio do comprimento da cabeça. Dos tres articulos que as formam, o primeiro é o mais grosso e o terceiro o mais longo, os dois ultimos teem, approximadamente, o mesmo diametro.

Tuberculos oculares grandes, salientes, com cerda longa.

Thorax curto e largo, mais curto que a cabeça e quasi tão largo quanto esta. Prothorax mais longo que o metathorax, tendo na face superior larga zona pigmentada; nas margens lateraes ha um par de grandes estigmas respiratorios. Metathorax com as extremidades lateraes salientes e o terço medio do bordo posterior concavo. Os pellos, quer das extremidades lateraes, quer os encontrados na região mediana, são grandes, do comprimento dos que guarnecem o abdomen. Na face inferior do thorax, entre os quadrís dos membros dos dois primeiros pares, se estende larga faixa chitinisada.

Membros thoracicos sem nada de particular; os anteriores ligeiramente menores que os medianos e posteriores.

Abdomen fortemente oval, ligeiramente mais longo do que largo, com as margens onduladas. Em cada segmento ha uma fileira transversal de cerdas grandes, continua nos esternitos e pleuritos e interrompida nos tergitos.

Deste facto resulta que a face superior do abdomen apresenta as cerdas dispostas em tres grupos estendidos longitudinalmente: um mediano e dois submarginaes.

Os tres ou quatro pleuritos anteriores são bem visiveis, embora não tenham placas pigmentadas nem espessamento accentuado do tegumento.

Junto ás margens abdominaes ha seis pares de grandes estigmas respiratorios.

A região genital (fig. 134) é bastante caracteristica da especie, tendo na linha mediana grande placa, com numerosos pontos escuros, por traz da qual se encontra delgada membrana, de margens irregulares, com um espessamento em fórma de V. Entre esta formação e as extremidades anteriores dos gonopo-

Fig. 134 — *Trichodectes canis*, genitalia da femea.

Fig. 135 — *Trichodectes canis*, genitalia do macho.

dos, existe, de cada lado, uma faixa escura, recurvada, tendo no bordo posterior algumas saliencias, onde se implantam pequenos pellos. Os gonopodos são grandes e curvos, voltados para fóra.

Macho (fig. 131). Comprimento: 1.74 mm.

Differe da femea unicamente pela fórma das antennas e da extremidade posterior do abdomen, mais fina. O primeiro segmento antennal é muito mais robusto que o segmento correspondente da femea e que os demais articulos da mesma antenna (fig. 133).

A genitalia (fig. 135) é simples, formada de placa basal longa, de margens parallelas, e de parameros robustos. A vesicula penis apresenta a metade posterior revestida de pequenos espinhos.

### 2. **Trichodectes galictidis** Werneck

1913 — *Trichodectes mephitidis,* Neumann, Archives de Parasitologie, vol. 15, pags. 618-620, fig. 10 (*nec* Packard).
1934 — *Trichodectes galictidis,* Werneck, Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, vol. 28, pags. 161-165, figs. 1-5.
1934 — *Trichodectes paranensis,* Kéler, Annales Musei Zoologici Poloniei, vol. 10, n.º 18, pags. 333-337, pl. 55-57.

HOSPEDADOR TYPO: — *Galictis vittata*, de Manguinhos, Districto Federal, Brasil.

HOSPEDADORES OUTROS: — Neumann descreveu especimens colhidos em *Galictis quiqui*, de Temulco, Chile, e Kéler material proveniente de *Grison furax furax*, do Rio da Areia, Paraná, Brasil.

ESPECIMENS EXAMINADOS: — Além dos do lote typo, examinamos muitos outros colhidos no mesmo hospedador, em diversas regiões do Brasil.

### 3. **Trichodectes pallidus** Piaget.

1880 — *Trichodectes pallidus,* Piaget, Les Pediculines, pags. 405-406, pl. 32, fig. 9.
1902 — *Trichodectes nasuatis,* Osborn, The Ohio Naturalist, vol. 2, pag. 178, pl. 2, fig. 3.
1903 — *Trichodectes nasuatis,* Morse, The American Naturalist, vol. 37, pag. 621, fig.
1908 — *Trichodectes nasuatis,* Kellogg, Genera Insectorum, fasc. 66, pag. 7.
1908 — *Trichodectes pallidus,* Kellogg, Genera Insectorum, fasc. 66, pag. 7.
1913 — *Trichodectes pallidus,* Stobbe, Sitzungsbericht der Gesellschaft Naturforschender Freunde, pag. 382.
1915 — *Trichodectes pallidus,* Kellogg & Ferris, The Anoplura and Mallophaga of North American Mammals, Leland Stanford Junior University Publications, University Series, pag. 65.
1915 — *Trichodectes nasuatis,* Kellogg & Ferris, The Anoplura and Mallophaga of North American Mammals, Leland Stanford Junior University Publications, University Series, pag. 65.
1916 — *Trichodectes nasuatis,* Harrison, Parasitology, vol. 9, pag. 71.
1916 — *Trichodectes pallidus,* Harrison, Parasitology, vol. 9, pag. 72.

HOSPEDADOR TYPO: — *Nasua fusca.*

HOSPEDADORES OUTROS: — Não foram assignalados outros hospedadores para esta especie, embora varios autores tenham usado de nomes differentes (*Nasua narica*, *Nasua narica bullata*) para designar o mesmo hospedador typo.

Especimens examinados: — Uma femea e um macho do lote typo, montados em lamina da collecção Piaget que nos foi, muito gentilmente, enviada para exame pelo Snr. Gordon B. Thompson do Museu Britannico.

Além deste material, examinamos innumeros especimens colhidos em *Nasua rufa*, pertencentes a nossa collecção e provenientes de diversos Estados do Brasil (Rio de Janeiro, São Paulo, Matto-Grosso). O Snr. Thompson nos enviou, tambem, exemplares encontrados em *Coelogenys* sp. da Argentina.

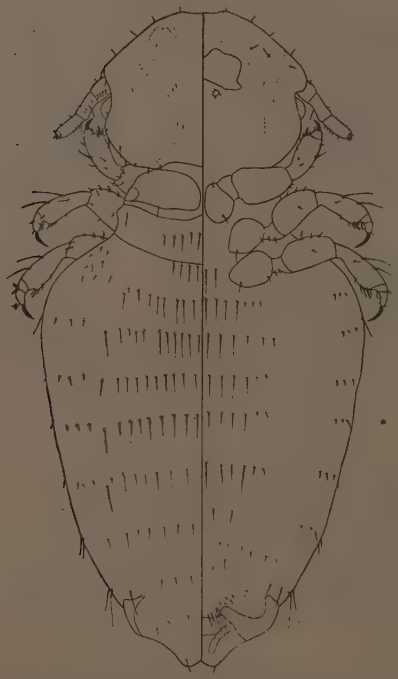


Fig. 136 — *Trichodectes pallidus*, femea.

Fig. 137 — *Trichodectes pallidus*, macho.

Descripção: — Femea (fig. 136). Comprimento: 1.73 mm.

Cabeça ligeiramente mais larga do que longa, com a borda anterior arredondada, embora ligeiramente reentrante na linha mediana. Em ambas as faces se encontram faixas resultantes de maior espessamento do tegumento. As da face superior se estendem ao longo da margem anterior e da occipital, reunida por uma terceira, encurvada, que percorre a referida face, delimitando as regiões temporaes; em alguns pontos estas faixas se alargam, formando manchas escuras. Na face inferior o espessamento do tegumento se processa, de preferencia, junto á margem anterior. Os pellos, de qualquer das faces, são pe-

quenos e em numero reduzido, não apresentando, portanto, interesse para a determinação da especie. Temporas pouco salientes. Antennas delgadas, formadas por tres segmentos de diametro approximadamente igual.

Thorax pequeno; mais curto que a cabeça e tão largo quanto esta de fórma subtrapezoidal, e com os segmentos bem desenvolvidos na face inferior, pois que o mesothorax é apenas visivel na face tergal. Prothorax com um par de estigmas respiratorios junto aos bordos lateraes e raros pellos dispersos, destituidos de valor; metathorax tendo, ao longo da margem posterior, uma fila regular de cerdas. Placas esternaes ausentes.

Abdomen ovoide, de margens ligeiramente onduladas, apresentando maior largura ao nivel do segundo e terceiro segmentos, inteiramente membranoso

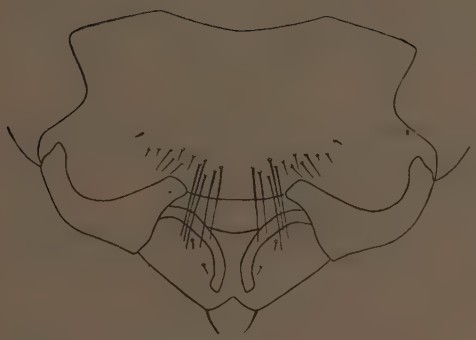


Fig. 138 — *Trichodectes pallidus*, genitalia da femea.

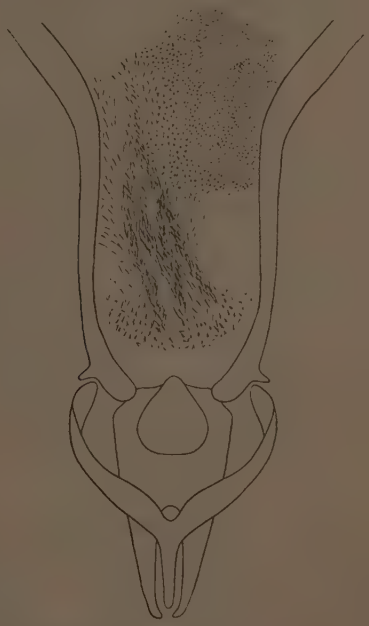


Fig. 139 — *Trichodectes pallidus*, genitalia do macho.

e privado de estigmas respiratorios. Ao longo das margens posteriores de cada segmento typico, se encontra, tanto na face tergal como na ventral, uma fila regular de cerdas; as desta ultima, entretanto, são formadas por menor numero destes elementos. Margens lateraes desprovidas de cerdas longas, sómente com alguns pellos que, mesmo nos pleuritos posteriores, não attingem grande comprimento.

Genitalia (fig. 138) formada de gonopodos grandes e privados de cerdas, tendo entre as extremidades afiladas, que sempre se acham colladas á face inferior do abdomen, alguns pellos longos.

Macho (fig. 137). Comprimento: 1.55 mm.

Muito semelhante á femea, da qual se distingue, sobretudo, pela fórma e tamanho das antennas, onde o primeiro artículo é consideravelmente maior, tanto em comprimento como em diametro, e o terceiro apresenta, na extremidade livre, dois espinhos chitinosos. As antennas da femea são delgadas e flexiveis, sendo as do macho grossas, rijas e encurvadas.

A fórma do abdomen é tambem differente. No macho elle é mais estreito, tendo a extremidade posterior, onde ha dois pares de cerdas longas, arredondada e não bilobulada.

Genitalia (fig. 139) formada de grande placa basal com margens fortemente chitinisadas, subparallelas nos dois terços posteriores e convergentes no terço anterior, e de pseudopenis em fórma approximada de Y. Encontra-se, ainda, na genitalia uma peça mediana, articulada na placa basal, possivelmente resultante da fusão dos parameros, reunidos pelas extremidades anteriores.

NOTA: — Em rigor, não nos seria permittido affirmar que *T. nasuatis* e *T. pallidus* sejam especies identicas e se assim as consideramos neste trabalho é tão sómente por acreditarmos na maior probabilidade de acerto que este procedimento encerra. A descripção original da primeira destas especies e o trabalho de Morse, que teve a sua disposição o material de Osborn, não fallam em favor da supposta diversidade. Baseados neste facto e na identidade dos hospedadores, onde até hoje só encontramos um parasito do mesmo genero, adquirimos a convicção de que a especie de Osborn não deve ser tida como valida.

Devido a grande gentileza de G. B. Thompson, que nos enviou para exame os typos existentes no Museu Britannico, podemos, entretanto affirmar que a especie aqui descripta é a de Piaget.

### 4. **Trichodectes interrupto-fasciatus** Kellogg & Ferris

1915 — *Trichodectes interrupto-fasciatus*, Kellogg & Ferris, The Anoplura and Mallophaga of North American Mammals, Leland Stanford Junior University Publications, University series, pags. 61-64, pl. 7, figs. 1-3.

1916 — *Trichodectes interrupto-fasciatus*, Harrison, Parasitology, vol. 9, pag. 70.

HOSPEDADOR TYPO: — *Taxidea taxus*, de South Yolla Bolly Mt., Tehama County, California, Estados Unidos.

É provavel que tenha havido engano na determinação deste hospedador, pois que a especie *Taxidea taxus* pertence á fauna europeia e o exemplar referido por Kellogg & Ferris provinha da California. Não é crivel que se tratasse dum animal introduzido nos Estados-Unidos, porque o trabalho publicado inclue sómente os mammiferos norte ame-

ricanos. Neste ultimo caso seria natural que os autores usassem das expressões « Old World badger » ou « European badger » que empregam, na mesma pagina, quando se referem ao *Trichodectes crassus*, e não do nome « badger » sem nenhum qualificativo.

HOSPEDADORES OUTROS: — Kellogg & Ferris encontraram, ainda, o *T. interrupto-fasciatus* num mustelideo, não determinado, de Choro, Bolivia.

ESPECIMENS EXAMINADOS: — Exemplares de ambos os sexos, colhidos pelo Dr. Kurt Wolffhügel em *Conepatus chinga* Molina, de Cayutue, Lago de Todos os Santos, Dept. de Llanquihue, Chile.

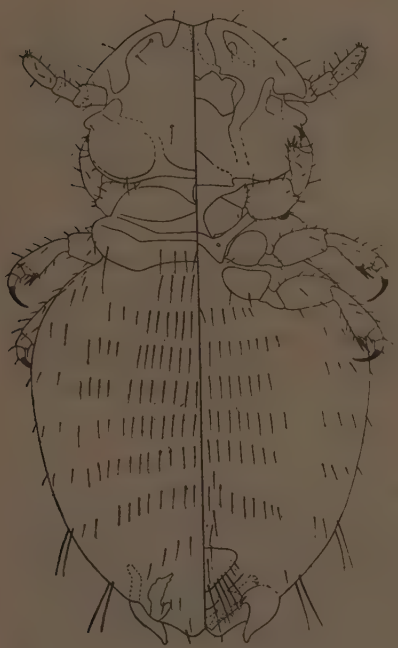


Fig. 140 — *Trichodectes interrupto-fasciatus*, femea.

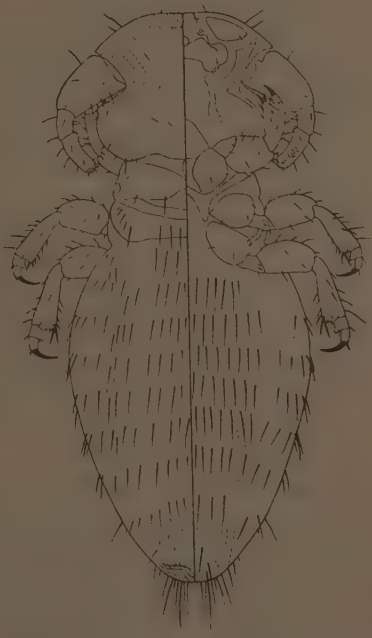


Fig. 141 — *Trichodectes interrupto-fasciatus*, macho.

DESCRIPÇÃO: — Femea (fig. 140). Comprimento: 1.60 mm.

Cabeça curta e larga, com a margem anterior arredondada, tendo, na linha mediana, ligeira reentrancia. Temporas não salientes, limitadas por bordos curvos, e margem occipital recta. Na face superior ha oito pontos escuros, resultantes de accentuado espessamento do tegumento: quatro na porção anterior da cabeça, junto á margem, e quatro na posterior. Os primeiros se acham ligados por duas faixas chitinisadas, cujas extremidades occupam, formando

dois pares independentes, um á direita e outro á esquerda; os ultimos se encontram na faixa existente ao longo da margem occipital ou junto ás fossas de implantação das antennas. A face inferior apresenta, como de costume, uma grande zona de chitinisação intensa nas regiões antero-lateraes, de fórma irregular e circumdando uma area de tegumento delgado, que termina por uma faixa que percorre a metade posterior da cabeça, em direcção approximadamente parallela á linha mediana, e uma placa gular mal delimitada. Raros são os pellos existentes na cabeça e os poucos que ahi se encontram, acham-se, de preferencia, nas margens temporaes.

Antennas curtas, delgadas, implantadas em pequenas fossas em meio do comprimento da cabeça e formadas de tres articulos, dos quaes o primeiro é o mais grosso e o ultimo o mais largo.

Olhos grandes e salientes.

Thorax curto e largo, formado apparentemente de dois unicos segmentos: o prothorax trapeziforme, com as margens lateraes divergentes, e o metathorax com as extremidades fortemente salientes e margem posterior concava. Na face superior se encontram alguns pellos nas extremidades lateraes e na margem posterior do ultimo segmento thoracico; na inferior, além dum par de grandes estigmas respiratorios, ha sómente um esclerito entre os quadrís anteriores e medianos.

Membros sem particularidade alguma.

Abdomen oval, curto e largo, sendo seu comprimento apenas superior á largura maxima, inteiramente membranoso e desprovido de placas tergaes, pleuraes e esternaes; na face superior encontra-se, unicamente, um par de manchas, escuras e mal delimitadas, junto á extremidade distal. Ao longo das margens posteriores dos segmentos typicos, ha uma fila regular de cerdas e, no terço terminal das margens abdominaes, dois pares de pellos grandes.

Estigmas respiratorios abdominaes ausentes.

Genitalia (fig. 142) formada por dois gonopodos de fórma muito caracteristica, tendo, na porção anterior dos bordos internos, uma serie de pellos pequenos implantados em ligeiras saliencias ahi existentes. Destes pellos, os dois ultimos são facilmente visiveis, não só pelo maior comprimento, como pela posição que occupam no apice dum grande lobulo; os outros são observados com difficuldade. Deve-se notar, ainda, uma grande placa genital, com duas margens postero-lateraes guarnecidas de cerdas longas e diversas manchas pigmentadas, que se encontram no espaço limitado pelas formações acima referidas, dispostas como representamos na fig. 142.

Macho (fig. 141). Comprimento: 1.55 mm.

Differe da femea, sobretudo, pela fórma recurvada e tamanho das antennas, onde o primeiro segmento se apresenta muito desenvolvido, tendo de comprimento metade do comprimento total das mesmas e diametro tres vezes maior que o dos demais articulos. Na extremidade distal do ultimo segmento ha um par de pequenos espinhos, voltados para dentro. As antennas requerem, necessariamente, maiores fossas de implantação, do que resulta ligeira modificação na fórma da cabeça.

O abdomen é mais estreito e oval, com a extremidade posterior mais fina e guarnecida de numerosas cerdas longas. Na ultima metade da face inferior ha, de cada lado, uma faixa escura parallela á linha mediana.

A genitalia (fig. 143) é dum typo simples e formada, apenas, por uma placa basal, de margens espessadas e parallelas em quasi toda sua extensão, de pseudo-penis em fórma de Y e duma placa mediana bifurcada na extremidade posterior. Deve-se notar, entretanto, que o ramo terminal do pseudo-

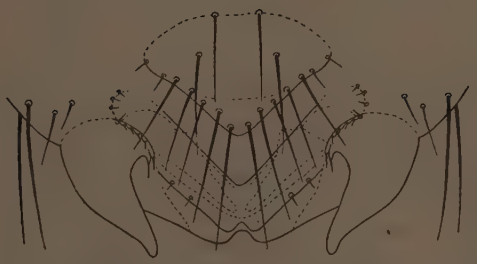


Fig. 142 — *Trichodectes interrupto-fasciatus*, genitalia da femea.

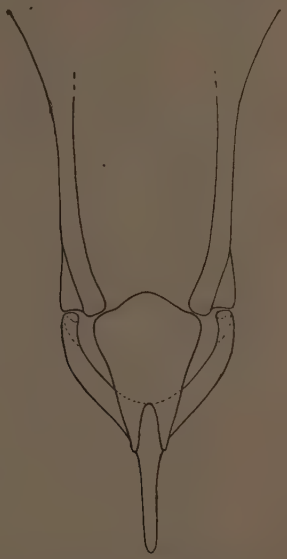


Fig. 143 — *Trichodectes interrupto-fasciatus*, genitalia do macho.

penis, de bordos parallelos, é mais longo que os lateraes, que a margem anterior da placa mediana é geralmente arredondada ou se apresenta, por vezes, ligeiramente saliente e, por fim, que os ramos terminaes desta sempre se encontram afastados e não ultrapassam, de modo sensivel, as margens do pseudo-penis.

### 5. **Trichodectes wolffhügeli** n. sp.

Hospedador typo: — *Conepatus chinga*, de Cayutue, Lago de Todos os Santos, Dept. de Llanquihue, Chile.

Especimens examinados: — Apenas os do lote typo, constituido por quatro machos que nos foram enviados por Dr. Kurt Wolffhügel.

DESCRIPÇÃO: — Macho (fig. 144). Comprimento: 1.72 mm.

Absolutamente identico, em seus caracteres externos, ao macho de *Trichodectes interrupto-fasciatus*, cujo estudo acabamos de fazer e do qual se distingue, apenas, por pequenas differenças encontradas no apparelho copulador. Nestas condições descreveremos sómente este ultimo, chamando a attenção para os pontos em que diverge da especie de Kellogg & Ferris.

Genitalia (fig. 145) de typo identico a de *T. interrupto-fasciatus*, isto é, formada de blaca basal de margens espessadas, de pseudo-penis em fórma de Y e duma placa mediana bifurcada na extremidade posterior. A primeira destas

Fig. 144 — *Trichodectes wolffhügeli*, macho.

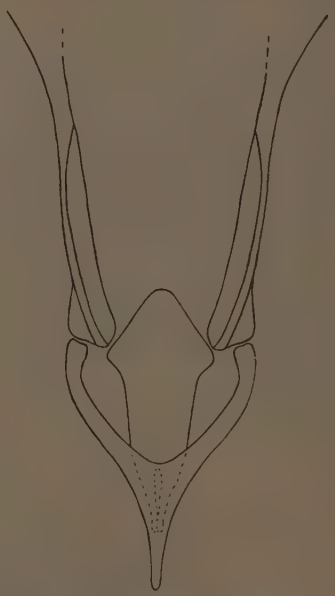


Fig. 145 — *Trichodectes wolffhügeli*, genitalia do macho.

peças tem os bordos lateraes rectos e convergentes e a segunda o ramo terminal ligeiramente menor que os proximaes. Além disto, devemos notar que o referido ramo do pseudo-penis se apresenta com as margens concavas, como se fossem delimitadas por duas curvas tangentes, e que sua largura diminue forte e gradativamente de deante para traz. A fórma da placa mediana é bem caracteristica, devido ao grande desenvolvimento da porção anterior subtriangular e aos ramos terminaes delgados, com as extremidades livres em contacto.

TYPO: — Lamina 1834.

PARATYPOS: — Laminas 1833, 1835 e 1836. Todo o lote typo pertence á nossa collecção.

NOTA: — Foi esta especie encontrada em material colhido pelo Dr. Kurt Wolffhügel num especimen de *Conepatus chinga* Molina, material este que nos foi muito amavelmente cedido para exame. Estudando-o, verificamos constar de 16 machos, 31 femeas e grande numero de fórmas immaturas.

Entre os machos, notamos a presença de duas especies distinctas, embora muito proximas, distinguindo-se por pequenos caracteres proprios ás genitalias e por sensivel differença de tamanho. Uma dellas, de que dispunhamos de 12 exemplares, foi identificada ao *Trichodectes interrupto-fasciatus*, dada a absoluta concordancia verificada entre os especimens em mãos e o estudo publicado por seus autores; a outra, representada por 4 individuos, foi considerada nova e designada pelo nome especifico de *wolffhügeli* em homenagem á seu illustre collecionador. Ainda que pequenas, as differenças do apparelho copulador são nitidas, constantes e de ordem superior ás variações individuaes. Nas figs. 146 e 147, onde representamos a porção posterior das genitalias de todos os exemplares examinados, assignalados pelos numeros que lhes foram attribuidos em nossa collecção, pode-se verificar o que acabamos de afirmar e distinguir facilmente um grupo formado pelos exemplares 1821-1832 e um outro abrangendo os numeros 1833-1836, de accôrdo com os caracteres referidos nas descripções que acabamos de fazer. A variação insignificante entre os individuos dum mesmo grupo e a ausencia de fórmas intermediarias entre exemplares de grupos distinctos, justifica plenamente a separação das especies, sobretudo se se ponderar no facto de terem sido ambas encontradas, de mistura, num mesmo hospedador.

A nova especie é, tambem, muito proxima de *Trichodectes mephitidis*, mas a comparação das genitalias dos machos permitte, mais uma vez, seu facil reconhecimento. Em *mephitidis* o ramo terminal do pseudo-penis é muito curto e tem quasi a mesma largura em toda a sua extensão, os ramos anteriores da referida peça são mais afastados e os que resultam da bifurcação da placa mediana, menores e nitidamente separados nas extremidades livres. Este ultimo caracter, digamos de passagem, não é totalmente destituido de valor, como seria licito suppôr, porquanto tentamos inutilmente afastar as extremidades posteriores das placas de nossos exemplares de *T. wolffhügeli* e approximar as de *T. interrupto-fasciatus*. Póde-se dizer que pela fórma do pseudo-penis, apezar do pequeno comprimento de seu ramo terminal, e da porção posterior

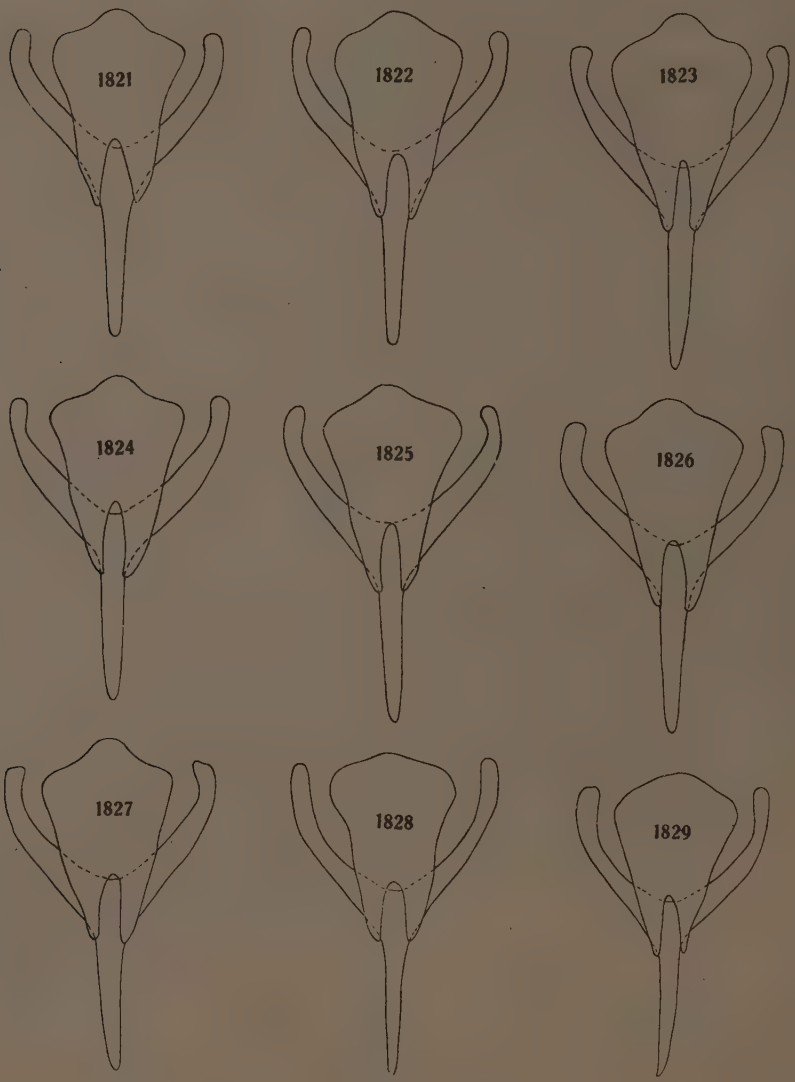



Fig. 146 — *Trichodectes interrupto-fasciatus*, extremidade do apparelho copulador dos exemplares n.os 1821 á 1829.

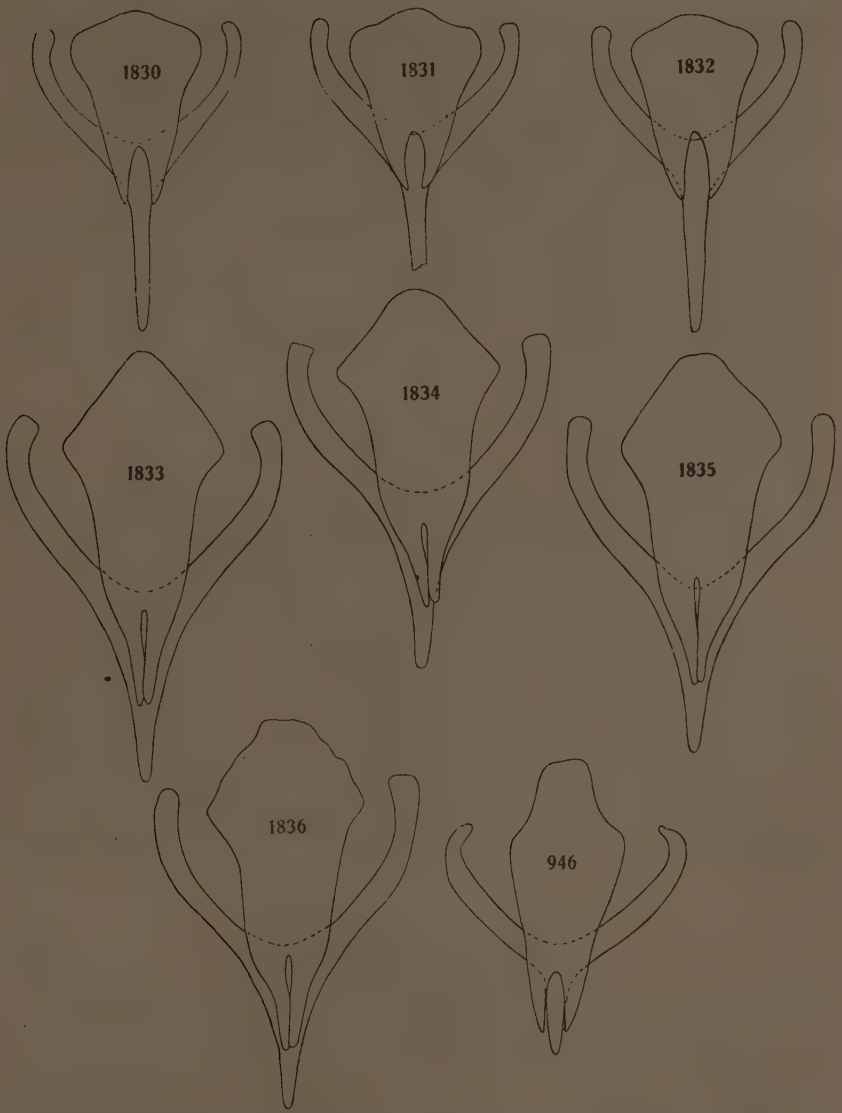



Fig. 147 — *Trichodectes interrupto-fasciatus*, extremidade do apparelho copulador dos exemplares n.os 1830-1832. *Trichodectes wolffhügeli*, idem dos exemplares n.os 1833-1836. *Trichodectes mephitidis*, idem do exemplar n.º 946.

Os desenhos desta figura, bem como os da anterior, foram feitos na mesma escala.

da placa mediana, o *T. mephitidis* se assemelha ao *T. interrupto-fasciatus* e que pela conformação da parte anterior desta ultima peça se approxima de *T. wolffhügeli*. Para melhor comprehensão do que vimos de expôr, incluimos na fig. 147 um desenho da genitalia de *T. mephitidis*, marcado cuidadosamente com camara de Abbe e obtido dum exemplar colhido em *Mephitis occidentalis* da California.

Outras especies descriptas de mustelideos norte-americanos — *T. minutus* Paine, *T. monticulus* Mc Gregor — não devem ser tomadas em consideração. Kellogg & Ferris, após pesquizas em abundante material, consideraram a especie de Paine identica ao *T. mephitidis*, opinião esta aceita pelos melhores especialistas. Acreditamos que a especie de Mc Gregor seja um segundo synonymo de *T. mephitidis*, em vista de serem as differenças com que pretendeu distinguil-a inteiramente destituidas de qualquer valor.

Todas as femeas existentes no material colhido pelo Dr. Wolffhügel eram absolutamente iguaes, o que nos permitte formular duas hypotheses, igualmente aceitaveis: ou as especies *T. interrupto-fasciatus* e *T. wolffhügeli* se differenciam unicamente pelos machos ou no material enviado não havia femeas da nova especie. É fóra de duvida que se em 16 exemplares machos verificamos a presença de 4 especimens de *T. wolffhügeli*, em 31 exemplares femeas deveriamos, com muita probabilidade, encontrar alguns representantes desta especie, uma vez que os individuos deste sexo são sempre abundantes, ao contrario do que commumente succede com os machos. Em favor da segunda hypothese, podemos allegar que não notamos, como seria de esperar e de accôrdo com o observado nos machos, differenças sensiveis de tamanho nas femeas examinadas. Entretanto, dada a semelhança das femeas de *T. interrupto-fasciatus* e *T. mephitidis*, acreditamos mais provavel a primeira supposição.

### 6. **Trichodectes barbarae** Neumann

1913 — *Trichodectes barbarae,* Neumann, Archives de Parasitologie, vol. 15, pags. 616-618, fig. 9.
1916 — *Trichodectes barbarae,* Harrison, Parasitology, vol. 9, pag. 69.

Hospedador typo: — *Galictis barbara*, do Brasil.

Especimens examinados: — Duas laminas da collecção Neumann, enviadas, por obsequio, pelo Prof. A. Martin, da Escola Nacional Veterinaria de Toulouse, com uma femea e um macho do lote typo, trazendo

nos rotulos as indicações seguintes: *Trichodectes barbarae* Nn.. Sur *Galictis barbara*, Brésil, Göldi + Trouessart, 26-XI-1894 .

Material abundante colhido em *Galera barbara* do Alto Rio Doce (Minas-Geraes, Brasil) e do Rio Cuyabá (Matto-Grosso, Brasil).

DESCRIPÇÃO: — Femea (fig. 148). Comprimento: 1,48 mm.

Cabeça pouco mais larga de que longa, com a margem anterior li-

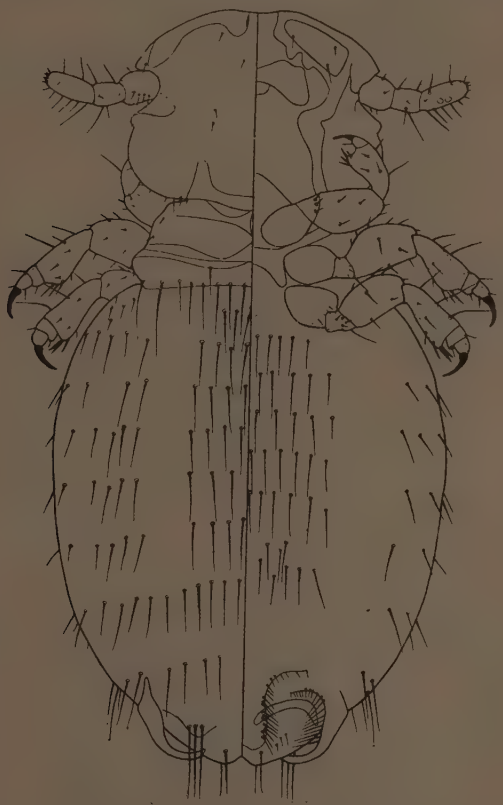


Fig. 148 — *Trichodectes barbarae*, femea.

geiramente curva, temporas arredondadas e não salientes e bordo occipital quasi recto. Na face superior ha, ao longo do bordo anterior e do posterior, zonas de espessamento do tegumento formando duas faixas escuras. A primeira é interrompida na linha mediana e a segunda tem as extremidades recurvadas. Formações da mesma natureza existem, tambem, na face inferior, onde se apre-

sentam com o aspecto representado na fig. 148. Ambas as faces teem raros pellos pequenos.

As antennas se implantam na porção anterior da cabeça, de modo que a região pré-antennal desta é muito maior que a post-antennal. São formadas de tres articulos, dos quaes o primeiro é o mais grosso e o ultimo o mais longo. Na face superior do primeiro segmento deve-se notar uma carreira regular formada por quatro cerdas; nos demais segmentos as cerdas maiores são todas marginaes.

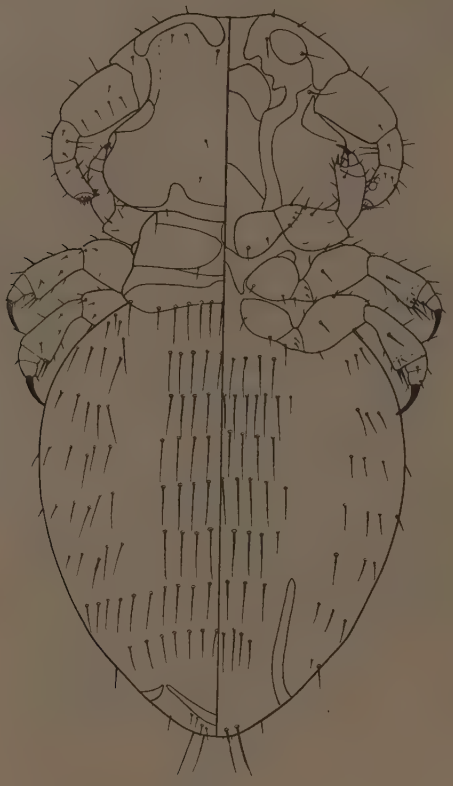


Fig. 149 — *Trichodectes barbarae*, macho.

Thorax curto e largo, com o bordo posterior guarnecido de cerdas e com duas saliencias nas margens lateraes, correspondentes ao metathorax. Na face inferior ha uma formação chitinosa, alongada, que se estende de margem á margem, passando entre os quadris dos dois primeiros pares de membros.

Membros thoracicos sem nada de particular.

Abdomen curto e largo, ovoide, apresentando, em ambas as faces e ao longo do bordo posterior de cada segmento, uma fila de cerdas. As da face superior formam tres grupos estendidos no sentido do eixo maior do abdomen, devido a interrupção que apresentam as seis primeiras filas transversaes de cerdas acima referidas; as da face inferior formam um só grupo mediano. Além destas, outras, em menor numero, existem junto as margens abdominaes.

Genitalia (fig. 150) formada de gonopodos grandes, com as extremidades livres fazendo saliencia na porção posterior do abdomen e com o bordo interno guarnecido de cerdas, cujo comprimento augmenta de deante para traz, e duma formação mediana apresentando, tambem, grande numero de cerdas nos bordos lateraes.

Macho (fig. 149). Comprimento: 1.42 mm.

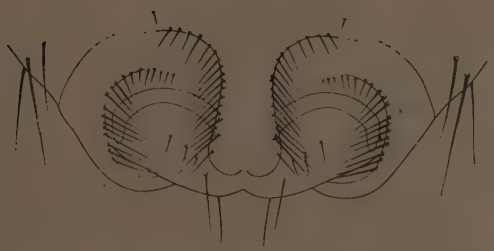


Fig. 150 — *Trichodectes barbarae*, genitalia da femea.

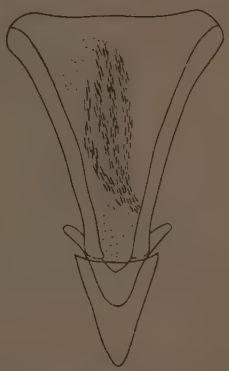


Fig. 151 — *Trichodectes barbarae*, genitalia do macho.

Apresenta como principal caracter sexual secundario a differença de fórma e tamanho das antennas, nas quaes o primeiro articulo tem desenvolvimento notavel. O comprimento deste segmento iguala ao dos dois outros reunidos e sua largura é duas vezes maior que a apresentada pelos demais.

Abdomen com fórma oval mais pronunciada e apresentando na face inferior, de cada lado da extremidade posterior, uma fita escura, formada pelo espessamento do tegumento e delimitando a placa genital.

Genitalia constituida de placa basal muito larga na extremidade anterior e estreita na posterior, com os bordos lateraes rectos, quasi triangular, de pseudo-penis em fórma de V e duma peça triangular, cuja significação desconhecemos ao certo, mas que suppomos ser formada pela reunião dos parameros. A vesicula penis possue, além de pequenos espinhos, outros maiores, dispostos como se acha representado na fig. 151.

### 7. **Trichodectes octomaculatus** Paine

1882 — *Trichodectes vulpis,* Taschemberg. Die Mallophagen, Nova Acta, vol. 44, n.º 1, pags. 207-209, pl. 7, figs. 11, 11 a, 11 b (*nec* Denny).

Fig. 152 — *Trichodectes octomaculatus,* femea.

1896 — *Trichodectes crassus,* Osborn, Bul. 5, n. s., Div. of Entomology, U. S Dept. of Agriculture, pag. 237, (*nec* Nitzsch).

1912 — *Trichodectes octomaculatus,* Paine, Entomological News, vol. 23, pags. 438-439, pl. 20, fig. 1.

1913 — *Trichodectes procyonis,* Neumann, Archives de Parasitologie, vol. 15, pags. 624-626, fig. 14.
1913 — *Trichodectes procyonis,* Stobbe, Entomologische Rundschau, pag. 112.
1913 — *Trichodectes octomaculatus,* Stobbe, Sitzungsberichte der Gesellschaft Naturforschender Freunde, n.º 8, pag. 372.
1915 — *Trichodectes octomaculatus,* Kellogg & Ferris, The Anoplura and Mallophaga of North American Mammals, Leland Stanford Junior University Publications, University Series, pag. 64.
1916 — *Trichodectes octomaculatus,* Harrison, Parasitology, vol. 9, pag. 71.

Fig. 153 — *Trichodectes octomaculatus,* macho.

HOSPEDADOR TYPO: — *Procyon psora.*

HOSPEDADORES OUTROS: — Esta especie foi assignalada, tambem, em *Procyon lotor* por varios autores, tendo sido, por vezes, confundida com *Trichodectes vulpis* Denny e, provavelmente, com *Trichodectes crassus* Nitzsch.

ESPECIMENS EXAMINADOS: — Numerosos exemplares, de ambos os se-

xos, colhidos em *Procyon cancrivorus* de Porto Esperança (Estado de Matto Grosso, Brasil) e Guariba (Est. de São Paulo, Brasil).

Uma femea e uma fórma joven encontrada em *Procyon lotor fuscipes* de Victoria, Texas, Estados-Unidos, que nos foram gentilmente enviados por H. S. Peters.

DESCRIPÇÃO: — Femea (fig. 152). Comprimento: 1.70 mm.

Cabeça larga e curta, com a borda anterior arredondada e temporas pouco salientes. A porção pré-antennal, muito pequena, representa aproximadamente um terço da superficie total da cabeça Face superior e inferior, assim como toda a peripheria, quasi desprovidas de pellos, sendo os raros existentes pequenos e de pouca importancia. O espessamento do tegumento em alguns pontos da face tergal dá origem ás oito manchas escuras que ahi se encontram e cuja disposição é a seguinte: quatro ao longo da borda anterior, duas junto aos seios antennaes e duas no bordo occipital.

Os articulos antennaes são approximadamente do mesmo comprimento, sendo o primeiro, entretanto, ligeiramente mais grosso que os outros. No primeiro segmento deve-se notar tres pequenos pellos dispostos em fila ao longo do bordo posterior, no segundo duas cerdas longas, e no terceiro seis ou sete pellos grandes, dispostos, tambem, em fila ao longo do bordo posterior.

Thorax pequeno: mais curto que a cabeça. Prothorax subrectangular, mesothorax muito reduzido na face superior do thorax e metathorax largo, com as extremidades lateraes salientes e margem posterior concava. Margens lateraes do metathorax rectas e convergentes, apresentando tres cerdas junto ás saliencias lateraes do thorax. Esternitos thoracicos ausentes e membros sem particularidade de interesse.

Abdomen largo, com as margens lateraes subparallelas, tendo na face superior seis placas tergaes, cujo tamanho augmenta a medida que se approximam da extremidade posterior. Pleuritos bem delimitados, embora não apresentem placas de maior chitinisação. Na face superior o numero de cerdas é muito reduzido, porém o modo por que se acham distribuidas é bastante interessante pela regularidade que offerece. Cada segmento abdominal typico tem seis cerdas dispostas numa só fila transversal, formando com as cerdas correspondentes dos outros segmentos seis outras carreiras longitudinaes; duas submedianas e duas de cada lado junto aos pleuritos. As cerdas da face inferior, mais numerosas, formam, tambem, uma fileira transversal em cada segmento, mas nesta face não se observam as filas longitudinaes verificadas na face superior. Outras cerdas são, ainda, encontradas ao longo dos bordos posteriores dos pleuritos.

De cada lado do abdomen, ha tres grandes estigmas respiratorios.

A genitalia, representada na fig. 154, é formada de gonopodos grandes, com as extremidades posteriores livres, ultrapassando as margens abdominaes e com os bordos internos guarnecidos por tres grandes cerdas e numerosos pellos menores.

Macho (fig. 153). Comprimento: 1.42 mm.

Differe um pouco da femea:

As antennas são consideravelmente mais fortes, devido ao grande desen-

volvimento do primeiro articulo. A relação de comprimento dos dois outros segmentos differe tambem, pois que, no macho o ultimo é mais longo que o segundo. Os pellos são menores e menos numerosos. Deve-se notar ainda a fórma recurvada das antennas.

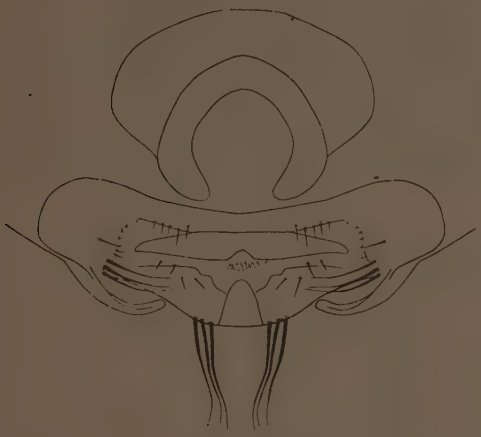


Fig. 154 — *Trichodectes octomaculatus*, genitalia da femea.

Fig. 155 — *Trichodectes octomaculatus*, genitalia do macho (em repouso).

Fig. 156 — *Trichodectes octomaculatus*, genitalia do macho (distendida).

O abdomen é oval e tem maior numero de placas chitinosas, não só na face superior como na inferior. Na porção posterior desta ultima, os esternitos se reunem formando uma grande placa genital.

Genitalia (figs. 155 e 156) muito simples, unicamente formada de placa

basal alongada, de margens parallelas, parameros fortes com a extremidade distal em ponta fina e vesicula penis revestida de dentes chitinosos, que se apresentam mais desenvolvidos em meio do comprimento desta.

NOTA: — Devemos formular alguma reserva a respeito da identificação, que aqui fazemos, dos parasitos do *Procyon cancrivorus* do Brasil aos encontrados no *Procyon lotor* da America do Norte, porquanto é esta baseada unicamente no perfeito conhecimento das femeas. Infelizmente não ha na litteratura informações precisas sobre os machos encontrados no ultimo dos hospedadores acima citados, nem nos foi possivel obter os exemplares de que necessitavamos para identificação cabal.

### 8. **Trichodectes potus** Werneck

1934 — *Trichodectes potus*, Werneck, Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, vol. 28, pags. 171-174, figs. 7-10.

HOSPEDADOR TYPO: — *Potos flavus*, da Serra do Tinguá, Municipio de Nova Iguassú, Est. do Rio de Janeiro, Brasil.

ESPECIMENS EXAMINADOS: — Sómente os do lote typo.

### 9. **Trichodectes felis** Werneck

1934 — *Trichodectes felis*, Werneck, Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, vol. 28, pags. 282-285, figs. 11-14.

HOSPEDADOR TYPO: *Felis chibigouazou*, do Rio Cuyabá, Matto-Grosso, Brasil.

ESPECIMENS EXAMINADOS: Além dos exemplares componentes do lote typo, examinamos muitos outros, de ambos os sexos, colhidos em *Felis jaguarundi* de Palma, (Goyaz, Brasil) e das cabeceiras do Rio Cap. Telles Pires (Matto-Grosso, Brasil), em *Felis pajerus* do sul do Estado de Matto-Grosso e em *Felis concolor* do Rio da Estrella (Est. do Rio de Janeiro, Brasil).

### 10. **Trichodectes subrostratus** Nitzsch

1818 — *Trichodectes subrostratus*, Nitzsch, Magazin der Entomologie de Germar, vol. 3, pag. 296.

1829 — *Trichodectes subrostratus*, Stephens, A systematic catalogue of British insects, vol. 2, Haustellata, pag. 330.

1838 — *Trichodectes subrostratus*, Burmeister, Handbuch der Entomologie, vol. 2, pag. 436.

1842 — *Trichodectes subrostratus*, Denny, Monographia Anoplurorum Britanniae, pags. 61 e 189 e postscript.

1842 — *Trichodectes subrostratus*, Gurlt, Mag. f. d. ges. Thierheilkunde, vol. 9, pag. 6.

1844 — *Trichodectes subrostratus*, Gervais, Histoire Naturelle des Insectes de Walkenaer, Aptères, vol. 3, pag. 312.

1857 — *Trichodectes subrostratus*, Gurlt, Archiv für Naturgeschichte, vol. 23, pag. 279.

1861 — *Trichodectes subrostratus*, Giebel, Zeitschrift f. ges. Naturwiss., vol. XVII, pag 88, pl. 1, figs. 4-6.

1874 — *Trichodectes subrostratus*, Giebel, Insecta Epizoa, pags. 55-56, pl. 3, fig. 5.

1878 — *Trichodectes subrostratus*, Gurlt, Archiv für Naturgeschichte, vol. 44, pag. 163.

1880 — *Trichodectes subrostratus*, Piagel, Les Pediculines, pag. 389-391, pl. XXXI, fig. 9.

1891 — *Trichodectes subrostratus*, Osborn, Bul. 7, Div. of Ent., U. S. Depart. of Agriculture, pag. 42, fig. 31.

1892 — *Trichodectes subrostratus*, Neumann, Traité des Maladies Parasitaires non Microbiennes des Animaux Domestiques, 2.ª ed., pags. 471. fig. 39.

1895 — *Trichodectes subrostratus*, Railliet, Traité de Zoologie Medicale et Agricole, 2.ª ed., pag. 837-838, fig. 581.

1896 — *Trichodectes subrostratus*, Osborn, Bul. 5, n. s., Div. of Entomology, U. S. Dept. of Agriculture, pag. 203, fig. 126 e pag. 237.

1900 — *Trichodectes subrostratus*, Kellogg. Proc. of the U. S. Nat. Museum, vol. 22, pag. 68.

1903 — *Trichodectes subrostratus*, Morse. The American Naturalist, vol. 37, pags. 618-619, fig.

1908 — *Trichodectes subrostratus*, Kellogg, Genera Insectorum, fasc. 66, Mallophaga, pag. 8.

1912 — *Trichodectes subrostratus*, Neveu-Lemaire, Parasitologie des Animaux Domestiques, pag. 1108, fig. 743.

1912 — *Trichodectes subrostratus*, Paine, Entomological News, vol. 23, n.º 10, pag. 438.

1913 — *Trichodectes subrostratus*, Johnston & Harrison, Proc. of the Royal Soc. of Queensland, vol. 24, pag. 22.

1913 — *Trichodectes subrostratus*, Stobbe, Sitzungsberichte der Gesellschaft Naturforschender Freunde, pag. 378.

1914 — *Trichodectes subrostratus*, Kellogg, The American Naturalist, vol. 48, pag. 267.

1915 — *Trichodectes subrostratus*, Kellogg & Ferris, The Anoplura and Mallophaga of North American Mammals, Leland Stanford Junior University Publications, University Series, pag. 58.

1916 — *Trichodectes subrostratus*, Harrison, Parasitology, vol. 9, pag. 73.

1924 — *Trichodectes subrostratus*, Seguy, Les Insectes Parasites de l'Homme et des Animaux Domestiques, pags. 50-51, fig. 36.
1929 — *Felicola subrostrata*, Ewing. Manual of External Parasites, pag. 122.
1929 — *Felicinia subrostrata*. Bedford, 15th. Annual Report of the Director of Veterinary Services, Union of South Africa, pag. 519.
1932 — *Felicola subrostrata*, Bedford, Parasitology, vol. 24, pag. 360, figs. 1 G, 6 B, b.

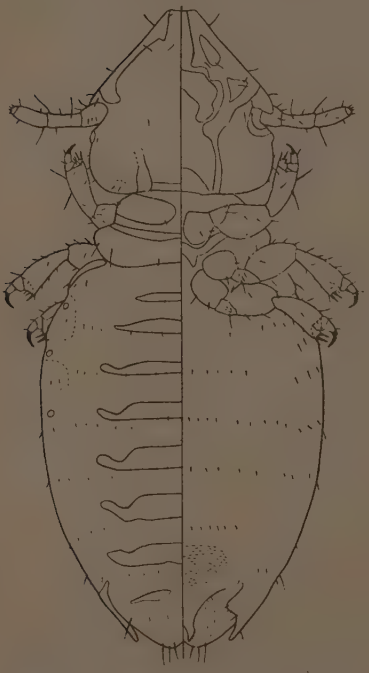


Fig. 157 — *Trichodectes subrostratus*, femea.

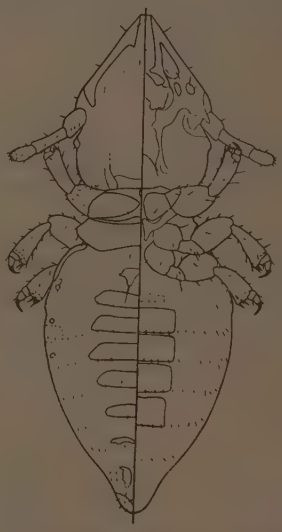


Fig. 158 — *Trichodectes subrostratus*, macho.

HOSPEDADOR TYPO: — *Felis cati*.

HOSPEDADORES OUTROS: — Assignalado, ainda, em *Lynx rufus* da California por Paine e em *Herpestes pluto* do Camerum por Stobbe.

Este ultimo encontro carece de confirmação, a determinação do parasito tendo sido feita unicamente pelo exame de especimens femeas, que difficilmente se podem distinguir das de outras especies encontradas em hospedadores proximos. Stobbe, aliás, formulou restricções quanto a determinação dos exemplares, admittindo a possibilidade de pertencerem a especie distincta.

Especimens examinados: Numerosos machos e femeas colhidos em gato domestico, na cidade do Rio de Janeiro.

Descripção: — Femea (fig. 157). Comprimento: 1.29 mm.

Cabeça pentagonal, com a porção anterior triangular e a posterior subrectangular; tão longa quanto larga. A face superior apresenta uma faixa chitinisada e escura ao longo das margens anterolateraes e da occipital; as faixas que habitualmente, atravessam as regiões temporaes são apenas visiveis junto ao bordo posterior da cabeça. Na face inferior a area de chitinisação intensa é maior e mais irregular. Pellos insignificantes em numero e tamanho. Temporas arredondadas, não salientes.

Antennas delgadas, implantadas na metade posterior da cabeça. Primeiro segmento mais curto e mais grosso que os outros, cujo diametro é approximadamente o mesmo. Segundo articulo mais longo que o terceiro.

Olhos pequenos

Thorax curto e tão largo quanto a cabeça. Prothorax subrectangular e metathorax com as extremidades lateraes salientes e margem posterior ligeiramente concava. Na face superior de ambos os segmentos thoracicos ha alguns pellos, de tamanho e numero muito reduzidos. Na inferior se encontra uma faixa de chitinisação reforçada entre os quadris dos membros do primeiro e segundo par.

Membros pequenos e de fórma habitual.

Abdomen oval, tendo de comprimento vez e meia sua maior largura. Os segmentos typicos teem ao longo da margem posterior uma fila de pequenos pellos, implantados com grande espaço intermediario, e na face superior placas alongadas e escuras, a maioria das quaes apresenta as extremidades lateraes recurvadas para deante. Exceptuam-se a primeira, quasi recta, e a oitava e ultima, que soffrem uma interrupção na linha mediana.

Junto as margens do abdomen ha tres pares de estigmas respiratorios e igual numero de placas pleuraes rudimentares.

A genitalia (fig. 159) é formada de gonopodos grandes, tendo accentuado lobulo na borda interna, com cinco cerdas curtas, e duma placa genital escamosa e cordiforme. Entre os gonopodos ha uma formação muito delicada, com alguns pellos pequenos nas margens irregulares, como se acha representado na fig. 159.

Macho (fig. 158). Comprimento: 0.98 mm.

A cabeça é mais alongada que a da femea e sua porção anterior mais aguda.

Abdomen oval mais pronunciado, tendo a extremidade posterior em ponta.

As placas tergaes não teem as extremidades lateraes recurvadas para deante. A primeira apresenta, na margem posterior, duas grandes saliencias com uma cerda, relativamente longa, implantada na ponta; a setima e a oitava são interrompidas na linha mediana.

Na face inferior do abdomen ha algumas placas esternaes, a primeira menos nitida que as quatro outras restantes, não nos tendo sido possivel observar formações correspondentes na femea.

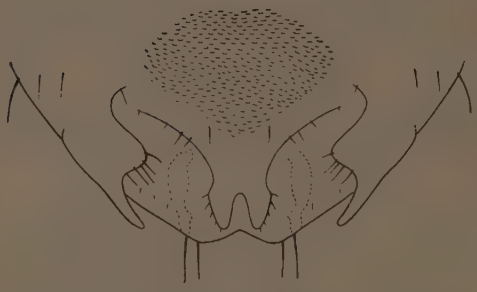


Fig. 159 — *Trichodectes subrostratus*, genitalia da femea.

Fig. 160 — *Trichodectes subrostratus*, genitalia do macho

Genitalia (fig. 160) formada de placa basal oval muito alongada, com a extremidade mais fina voltada para a frente, de parameros longos e afilados e de pseudo-penis pequeno.

## 11. **Trichodectes gastrodes** Cummings

1916 — *Trichodectes gastrodes*, Cummings, The Annals and Magazine of Natural History, vol. 17, 8.ª serie, pags. 94-101, figs. 2, 3, 4.

1916 — *Trichodectes gastrodes*, Harrison, Parasitology, vol. 9, pag. 70.

Hospedador typo: *Choloepus didactylus*, do Rio Supinaam, Guyana Ingleza.

Especimens examinados: — Tres laminas pertencentes ao Museu Britannico, enviadas para exame por Gordon B. Thompson, e certamente pertencentes ao lote typo. Numa havia uma femea, n'outra um macho e na terceira a genitalia deste ultimo, cujas peças se achavam separadas.

Todas tinham nos rotulos as seguintes indicações: « *Trichodectes gastrodes* Cummings, *Choloepus didactylus*, Sloth, British Guiana, Rio Supinaam, 1913-305, Sig. A. J. E. Terzi ».

NOTA: — Devido ao máo estado de conservação dos especimens não nos foi possivel desenhal-os. Qualquer tentativa neste sentido, bem como qualquer ensaio de descripção, seriam inuteis porque nada seria possivel accrescentar ás informações contidas no trabalho de Cummings.

### 12. **Trichodectes breviceps** Rudow

1866 — *Trichodectes breviceps*, Rudow, Zeitschrift f. ges. Naturwiss., vol. XXVII, pag. 110, pl. 5, fig. 2.
1874 — *Trichodectes breviceps*, Giebel, Insecta Epizoa, pags. 57-58.
1878 — *Trichodectes breviceps*, Gurlt. Archiv für Naturgeschichte, vol. 44, pag. 165.
1880 — *Trichodectes breviceps*, Piaget, Les Pediculines, pag. 394.
1882 — *Trichodectes breviceps*, Taschemberg, Die Mallophagen. Nova Acta. Bd. XLIV, n.º 1, pags. 215-216, pl. VII, fig. 12.
1885 — *Trichodectes inaequalemaculatus*, Piaget, Les Pediculines, Supplement. pags. 88-89, pl. IX, fig. 7.
1896 *Trichodectes breviceps*, Osborn. Bul. 5. n. s.. Div. of Entomology, U. S. Dept. of Agriculture, pag. 204.
1908 — *Trichodectes breviceps*, Kellogg. Genera Insectorum. fasc. 66. pag. 6.
1908 — *Trichodectes inaequalemaculatus*, Kellogg, Genera Insectorum, fasc. 66. pag. 7.
1910 — *Trichodectes aucheniae-lamae*. Torreggiani. Zooparasitos del Altiplano Boliviano, pags. 34 e 35, La Paz.
1912 — *Trichodectes aucheniae-lamae*. Neveu-Lemaire. Parasit. des Anim. Domestiques, pag. 1108.
1914 — *Trichodectes breviceps*, Kellogg. The American Naturalist, vol. 48, pag. 265.
1914 — *Trichodectes inaequalemaculatus*. Kellogg, The American Naturalist, vol. 48, pag. 265.
1916 — *Trichodectes aucheniae-lamae*. Harrison. Parasitology, vol. IX, pag. 69.
1916 — *Trichodectes breviceps*. Harrison. Parasitology, vol. IX. pag. 69.
1916 — *Trichodectes inaequalemaculatus*, Harrison. Parasitology, vol. IX, pag. 70.

HOSPEDADOR TYPO: — *Auchenia llama*.

HOSPEDADORES OUTROS: — Esta especie foi tambem encontrada no guanaco (*Auchenia guanaco*) por Piaget, que a descreveu como nova, com o nome de *Trichodectes inaequalemaculatus*.

ESPECIMENS EXAMINADOS: — Duas femeas e um macho pertencentes a collecção Piaget, presentemente no Museu Britannico, rotulados: « *Tri-*

*chodectes inaequalemaculatus* ♀, ♂ : « Sur une guanaco (*Auchenia guanaco*) » « Remounted by G. B. Thompson (Treated with KOH), 1935 ».

Além dos exemplares acima, evidentemente do lote typo de *T. inaequalemaculatus*, examinamos abundante material colhido em alpaca — *Lama pacos* (Lin.) — de Abra Pampa (Prov. de Jujuy, Rep. Argentina).

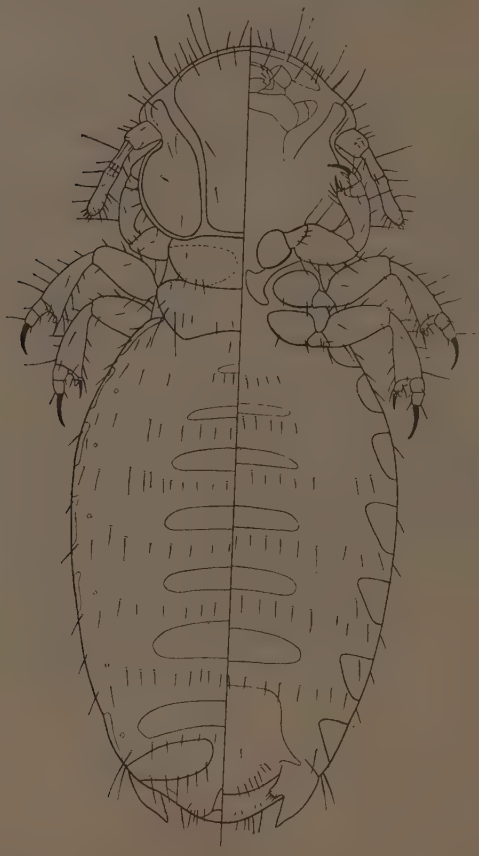


Fig. 161 — *Trichodectes breviceps*, femea.

DESCRIPÇÃO: — Femea (fig. 161). Comprimento: 1.72 mm.

Cabeça (fig. 163) ligeiramente mais larga do que longa, com a margem anterior arredondada, em curva de grande raio, borda occipital quasi recta

e temporas pouco salientes. Junto a margem anterior ha grande numero de cerdas longas, tão delgadas, porém, que com difficuldade são vistas; outras, menores, se encontram na face superior, na inferior e nas margens temporaes. Na face superior ha, ainda, duas faixas, uma de cada lado, resultantes de espessamento do tegumento e como que ligando a margem anterior da cabeça ao bordo occipital.

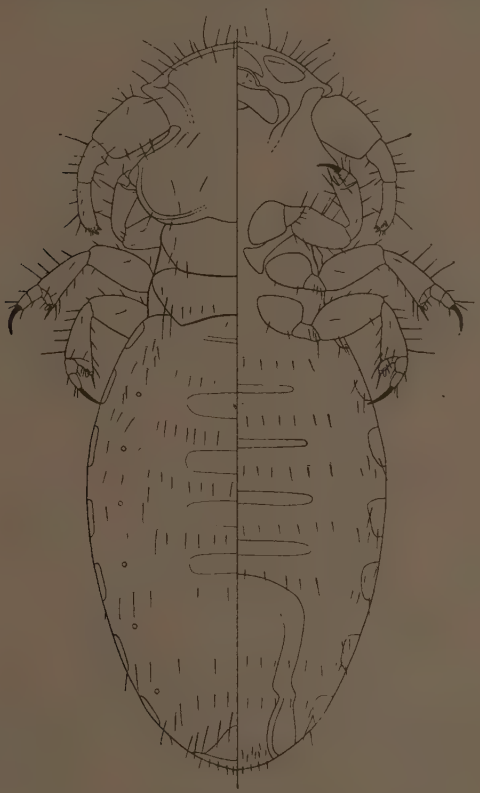


Fig. 162 — *Trichodectes breviceps*, macho.

Antennas formadas de tres segmentos, dos quaes o primeiro é o mais grosso. Os restantes são da mesma grossura, mas o terceiro é mais longo que o segundo.

Tuberculos oculares grandes e salientes.

Thorax curto e mais estreito que a cabeça. Prothorax rectangular, com as margens lateraes menores que as outras duas. Metathorax mais curto e mais largo que o prothorax. Na face superior do thorax se encontram alguns pellos, ao longo das margens posteriores do primeiro e do ultimo segmentos

thoracicos. Na face inferior ha uma formação intensamente chitinisada, dilatada na zona mediana, cujas extremidades lateraes se insinuam entre os quadrís dos membros do primeiro e segundo par.

Membros thoracicos sem nada de particular.

Abdomen grande, alongado, com uma fila de pequenos pellos em ambas as faces dos segmentos typicos, que apresentam, ainda, placas tergaes, es-

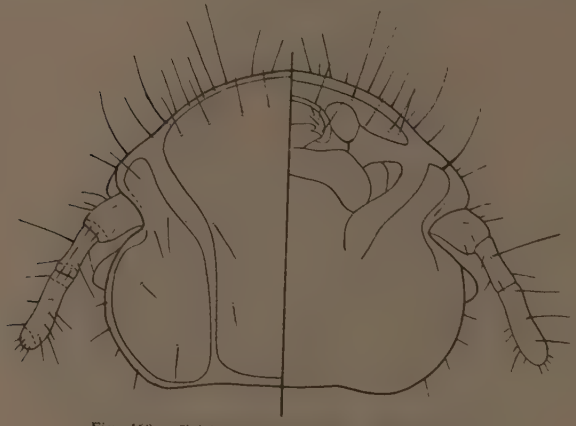


Fig. 163 *Trichodectes breviceps*, cabeça da femea.

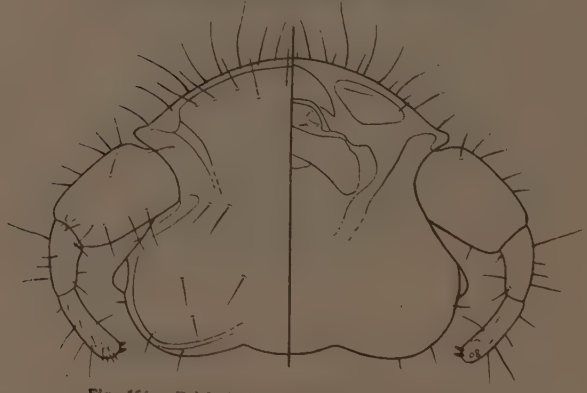


Fig. 164 — *Trichodectes breviceps*, cabeça do macho.

ternaes e pleuraes fortemente chitinisadas e pigmentadas. Junto as margens abdominaes se encontram seis pares de estigmas respiratorios de pequeno diametro.

A genitalia, representada na fig. 165, é muito complexa e absolutamente caracteristica da especie. Os gonopodos são grandes, ultrapassam as margens

do abdomen e tem no bordo interno uma dilatação onde se acham implantados quatro pellos.

Macho (fig. 162). Comprimento: 1.63 mm.

Distingue-se da femea, principalmente, pela fórma das antennas, em que o primeiro segmento apresenta consideravel desenvolvimento, resultando disto maiores reentrancias nas margens lateraes, nos pontos de implantação das antennas, e, consequentemente, ligeira modificação na fórma da cabeça (fig. 161) cujas temporas tornam-se mais salientes.

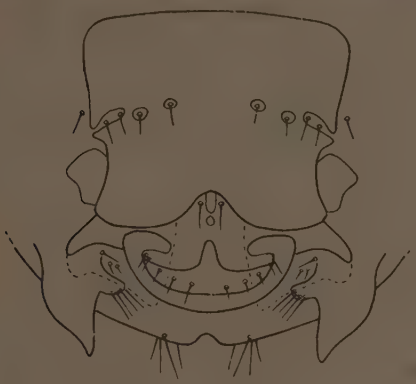


Fig. 165 — *Trichodectes breviceps*, genitalia da femea.

Fig. 168 — *Trichodectes breviceps*, aspecto da superficie da vesicula-penis.

Fig. 166 — *Trichodectes breviceps*, genitalia do macho.

Fig. 167 — *Trichodectes breviceps*, porção posterior da genitalia do macho.

As placas dos segmentos abdominaes, principalmente as da face superior, são ligeiramente differentes das que se encontram na femea e, sobretudo, menos chitinisadas e de contorno menos nitido.

Genitalia (fig. 166) formada de placa basal alongada, de margens espessadas, tendo, articuladas nas extremidades distaes, duas peças cuja significação desconhecemos. Parameros longos, delgados, parallelamente dispostos. Penis fino e comprido, vermiforme. A vesicula penis, de superficie escamosa, (fig. 168), tem duas faixas de chitinisação mais intensa, como se pode ver na fig. 167.

## 13. **Trichodectes ovis** (Linnaeus)

1668 — *Pidocchio del Montone Affricano*, Redi, Experienze intorno alla generazione degli insetti fatti, pl. XXII, fig. da esq.

1671 — *Pediculus arietis africani,* Redi, Experimenta circa generationem insectorum, pl. XXII, fig. da esq.
1712 — *Pidocchio del Montone Affricano,* Redi, Opere de Francesco Redi, pl. 22, fig. da esq.
1758 — *Pediculus ovis,* Linnaeus, Systema naturae, 10.ª ed., vol. 1, pag. 611.
1781 — *Pediculus ovis,* Schrank, Enumeratio Insectorum Austriae Indigenorum, pag. 502, pl. 1, fig. 8-9.
1787 — *Pediculus ovis,* Fabricius, Mantissa insectorum, vol. 2, pag. 368.
1794 — *Pediculus ovis,* Fabricius, Entomologia systematica, vol. IV, pag. 419.
1803 — *Pediculus ovisarietis,* Schrank, Fauna Boica, pag. 187.
1805 — *Pediculus ovis,* Fabricius, Systema antliatorum, pag. 341.
1816 — *Pediculus sphaerocephalus,* Olfers, De vegetativis et animatis corporibus in corporibus animatis referiundis commentarius, pag. 85.
1818 — *Trichodectes sphaerocephalus.* Nitsch, Magazin der Entomologie de Germar, vol. 3, pag. 296.
1829 — *Trichodectes sphaerocephalus,* Stephens, A systematic catalogue of British insects, vol. 2, Haustellata, pag. 330.
1838 — *Trichodectes sphaerocephalus,* Burmeister, Handbuch der Entomologie, vol. 2, pag. 436.
1842 — *Trichodectes sphaerocephalus,* Denny, Monographia Anoplurorum Britanniae, pags. 61 e 193-194, pl. 17, fig. 4.
1844 — *Trichodectes sphaerocephalus.* Gervais, Histoire Naturelle des Insectes de Walkenaer, Aptères, vol. 3, pag. 313.
1849 — *Trichodectes sphaerocephalus.* Gervais, Historia fisica y politica de Chile, de Claudio Gay, Zoologia, vol. 4, pag. 102.
1857 — *Trichodectes sphaerocephalus.* Gurlt, Archiv für Naturgeschichte, vol, 23, pag. 281.
1874 — *Trichodectes sphaerocephalus,* Giebel, Insecta Epizoa, pags. 60.
1878 — *Trichodectes sphaerocephalus.* Gurlt, Archiv für Naturgeschichte, vol. 44, pag. 167.
1880 — *Trichodectes sphaerocephalus,* Piaget, Les Pediculines, pags. 393-394, pl. 32, fig. 2.
1892 — *Trichodectes sphaerocephalus,* Neumann, Traité de Maladies Parasitaires non Microbiennes des Animaux Domestiques, 2.ª ed., pag. 68, fig. 31.
1895 — *Trichodectes sphaerocephalus.* Railliet, Traité de Zoologie Medicale et Agricole, 2.ª ed., pag. 836, fig. 578.
1896 — *Trichodectes sphaerocephalus,* Osborn, Bul. 5, n. s., Div. of Entomology, U. S. Dept. of Agriculture, pags. 206-207, figs. 130-131, e pag. 237.
1900 — *Trichodectes sphaerocephalus,* Kellogg, Proc. of the U. S. Nat. Mus., vol. 22, pag. 68.
1903 — *Trichodectes sphaerocephalus,* Morse, The American Naturalist, vol. 37, pag. 614, figs.
1908 — *Trichodectes sphaerocephalus,* Kellogg, Genera Insectorum, fasc. 66, Mallophaga, pag. 8.
1912 — *Trichodectes ovis,* Neveu-Lemaire, Parasitologie des Animaux Domestiques, pag. 1107, fig. 740.

1913 — *Trichodectes ovis*, Johnston & Harrison, Proc. of the Royal Society of Queensland, vol. 24, pag. 21.
1913 — *Trichodectes ovis*, Stobbe, Sitzungsberichte der Gesellschaft Naturforschender Freunde, pag. 380.
1915 — *Trichodectes sphaerocephalus*, Kellogg & Ferris, The Anoplura and Mallophaga of North American Mammals, Leland Stanford Junior University Publications, University Series, pag. 58.
1916 — *Trichodectes ovis*, Harrison, Parasitology, vol. 9, pag. 71.
1924 — *Trichodectes ovis*, Seguy, Les Insectes Parasites de l'Homme et des Animaux Domestiques, pag. 49, fig. 34.
1929 — *Bovicola ovis*, Ewing, Manual of External Parasites, pag. 123.
1929 — *Bovidoecus ovis*, Bedford, 15th. Annual Report of the Director of Veterinary Services, South Africa, pag. 519.
1932 — *Bovicola ovis*, Bedford, 18th. Report of the Director of Veterinary Services and Animal Industry, South Africa, pag. 362.

HOSPEDADOR TYPO: — *Ovis aries*.

HOSPEDADORES OUTROS: — Gervais encontrou a especie de que nos occupamos nos carneiros de cabeça preta da Abyssinia (*Ovis melanocephala*) e Piaget em exemplares de *Ovis ornata* do Jardim Zoologico de Rotterdam.

ESPECIMENS EXAMINADOS: — Numerosos individuos, de ambos os sexos, encontrados em carneiro (*Ovies aries*) de varias regiões do Brasil.

DESCRIPÇÃO: — **Femea (fig. 169). Comprimento: 1.77 mm.**

Cabeça (fig. 171) muito caracteristica, de fórma subcircular, com o comprimento ligeiramente maior que a largura. Na face superior ha, ao longo de todas as margens, faixas formadas por tegumento mais espessado: da que se encontra no bordo occipital partem duas outras, percorrendo, parallelamente, a metade posterior da cabeça e attingindo, em seguida, as extremidades lateraes da margem anterior, após mudança brusca de direcção. Deve-se, ainda, notar, nesta mesma face, o grande numero de pequenos pellos que se encontram dispersos pela superficie e junto ás margens. Na metade anterior da face esternal, merecem reparo as grandes areas, cobertas de pellos e circumdadas de faixas pigmentadas, que se encontram lateralmente, junto ao bordo anterior da cabeça; na metade posterior ha duas faixas parallelas, como de costume.

Olhos pequenos. Temporas não salientes. Antennas longas e delgadas, formadas de tres segmentos, o primeiro mais grosso e o segundo mais longo que os demais. Em todos os articulos antennaes o numero de pellos é elevado.

Thorax longo. Prothorax trapeziforme, com a margem anterior menor que a posterior e as lateraes divergentes; metathorax de fórma propria, tendo as margens lateraes salientes e a posterior concava. Na face superior do thorax ha um numero bastante elevado de pellos curtos, dispostos em fila, em ambos os segmentos thoracicos; na inferior encontram-se, entre os quadrís anteriores e medianos, os escleritos habituaes.

Membros da fórma commum as especies do genero, sendo os anteriores sensivelmente menores que os outros, e apresentando, como unica particularidade interessante, grande numero de pellos nos quadris.

Abdomen longo e oval, tendo as margens lateraes ligeiramente reentrantes ao nivel das suturas de seus segmentos. Na face superior se encontram nove placas tergaes fortemente pigmentadas, alongadas e transversalmente dispostas; na inferior ha cinco placas esternaes semelhantes. As margens abdominaes apresentam sete pleuritos intensamente chitinisados, cujo tamanho decresce de deante para traz, revestidos de numerosos pellos pequenos e, junto

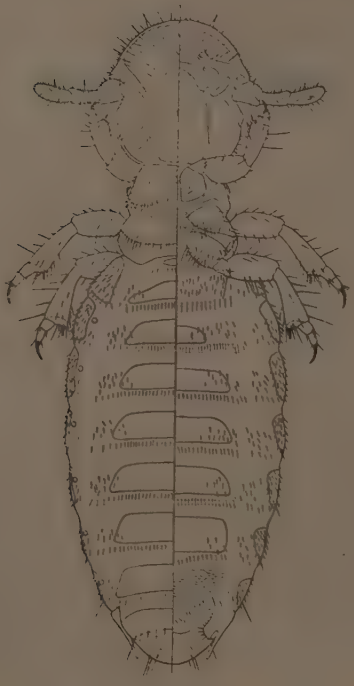


Fig. 169 — *Trichodectes ovis*, femea.

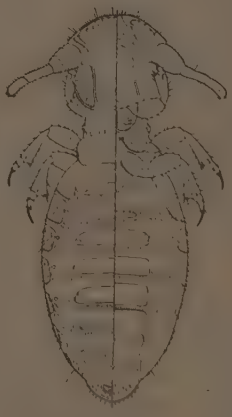


Fig. 170 — *Trichodectes ovis*, macho.

a elles, seis pares de estigmas respiratorios de abertura voltada para cima. Ao longo do bordo posterior dos segmentos typicos, quer na face tergal, quer na esternal, se estende uma fila regular de pellos curtos, nas extremidades das quaes se encontram pequenos grupos formados de elementos identicos. Na face inferior, entretanto, estes grupos são maiores que os correspondentes da face superior, principalmente os que se acham nos segmentos anteriores. Convem notar que o numero de pellos agrupados dos esternitos decresce de deante

para traz e que, no primeiro segmento, occupam quasi toda a superficie inferior do mesmo.

A genitalia é formada de dois gonopodos salientes, tendo nos bordos internos um lobulo onde se implantam algumas cerdas pequenas. Na linha mediana, e mais para a frente, ha uma zona em que o tegumento se apresenta escuro e de superficie escamosa. Entre esta região e a extremidade

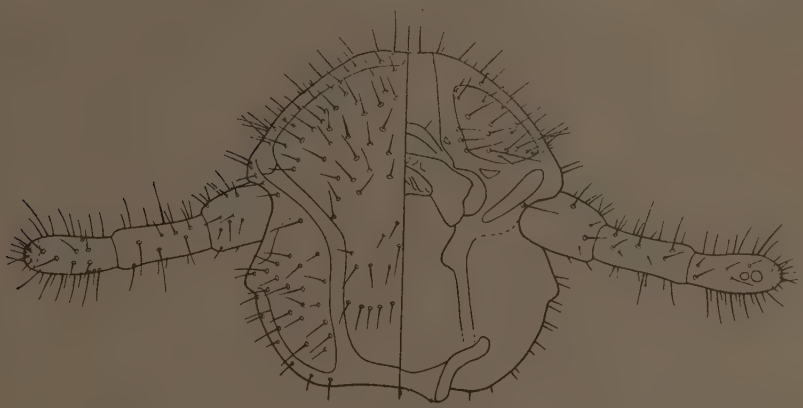


Fig. 171 — *Trichodectes ovis*, cabeça da femea.

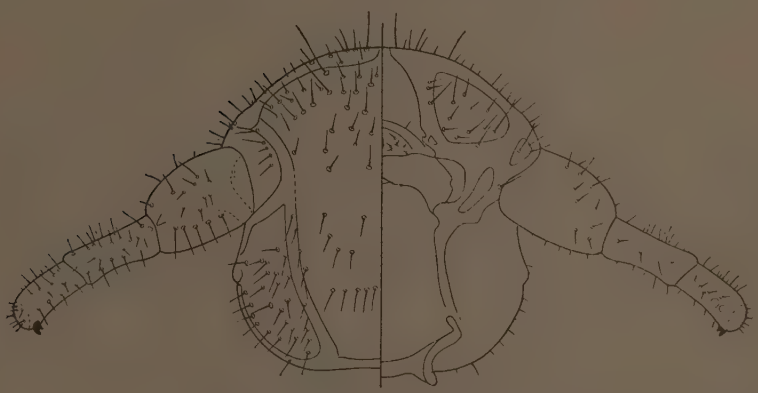


Fig. 172 — *Trichodectes ovis*, cabeça do macho.

posterior do abdomen se encontram alguns pellos, dispostos como representamos na fig. 173.

Macho (fig. 170). Comprimento: 1.55 mm.

Muito semelhante á femea, da qual se distingue, sobretudo, pela forma e tamanho das antennas, onde o primeiro articulo apresenta grande desen-

volvimento (fig. 172). O abdomen é mais accentuadamente oval, com a extremidade distal afilada, e tem, apenas, oito placas tergaes; na face inferior ha uma placa genital cujas margens lateraes são bem pigmentadas.

Genitalia (fig. 174) formada duma grande placa basal, cujo comprimento

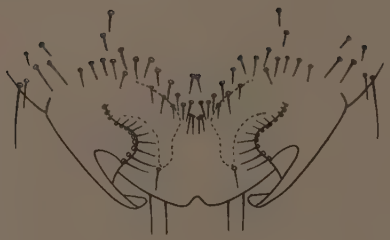


Fig. 173 — *Trichodectes ovis*, genitalia da femea.

Fig. 174 — *Trichodectes ovis*, genitalia do macho.

representa mais de sete oitavos de seu comprimento total, com dois longos ramos terminaes e parameros curtos, fortes e ligeiramente encurvados. Outras peças, cuja significação desconhecemos, contribuem para o aspecto caracteristico da genitalia.

## 14. **Trichodectes caprae** Gurlt

1818 — *Trichodectes climax*, Nitzsch, Magazin der Entomologie de Germar, vol. 3, pag. 296.

1843 — *Trichodectes caprae*, Gurlt, Mag f. d. Thierheilkunde, vol. 9, pag. 3, pl. 1, fig. 2.

1844 — *Trichodectes climax*, Gervais, Histoire Naturelle des Insectes de Walkenaer, Aptères, vol. 3, pag. 313, pl. 48, fig. 3.

1857 — *Trichodectes climax*, Gurlt, Archiv für Naturgeschichte, vol. 23, pag. 279.

1861 — *Trichodectes climax,* Giebel, Zeitschrift f. ges. Naturwiss., vol. 17, pag. 81, pl. 1, figs. 1 e 2.
1861 — *Trichodectes climacium,* Giebel, Zeit. f. ges. Nat., vol. 18, pag. 292.
1866 — *Trichodectes solidus,* Rudow, Zeit. f. ges. Nat., vol. 27, pag. 112, pl. 7, fig. 2.
1870 — *Trichodectes caprae,* Packard, American Naturalist, vol. 4, pag. 96, fig. 28.
1874 — *Trichodectes climax,* Giebel, Insecta Epizoa, pags. 58-59, pl. 20, fig. 2.
1874 — *Trichodectes solidus,* Giebel, Insecta Epizoa, pag. 57.
1878 — *Trichodectes climax,* Gurlt, Archiv für Naturgeschichte, vol. 44, pag. 166.
1878 — *Trichodectes solidus,* Gurlt, Archiv für Naturgeschichte, vol. 44, pag. 166.
1880 — *Trichodectes caprae,* Piaget, Les Pediculines, pag. 395.
1880 — *Trichodectes climax,* Piaget, Les Pediculines, pags. 391-392, pl. 32, fig. 1.
1880 — *Trichodectes solidus,* Piaget, Les Pediculines, pag. 394.
1882 — *Trichodectes climax,* Taschemberg, Die Mallophagen, Nova Acta, vol. 44, n.º 1, pags. 213-214.
1892 — *Trichodectes climax,* Neumann, Traité des Maladies Parasitaires non Microbiennes des Animaux Domestiques, 2.ª ed., pag. 69, fig. 35.
1895 — *Trichodectes climax,* Railliet, Traité de Zoologie Medicale et Agricole, 2.ª ed., pags. 836-837, fig. 579.
1896 — *Trichodectes climax,* Osborn, Bul. 5, n. s., Div. of Entomology, U. S. Dept. of Agriculture, pags. 204-205, figs. 128 e pag. 237.
1900 — *Trichodectes climax,* Kellogg, Proc. of the U. S. Nat. Museum, vol. 22, pag. 67.
1903 — *Trichodectes climax,* Morse, The American Naturalist, vol. 37, pags. 615-617, figs.
1908 — *Trichodectes caprae,* Kellogg, Genera Insectorum, fasc. 66, pag. 6.
1908 — *Trichodectes climax,* Kellogg, Genera Insectorum, fasc. 66, pag. 6.
1908 — *Trichodectes solidus,* Kellogg, Genera Insectorum, fasc. 66, pag. 8.
1910 — *Trichodectes climax,* Mjöberg, Arkiv för Zoologi, vol. 6, n.º 13, pag. 69.
1912 — *Trichodectes climax,* Neveu-Lemaire, Parasitologie des Animaux Domestiques, pag. 1107, fig. 741.
1912 — *Trichodectes climax,* Paine, Entomological News, vol. 23, n. 10, pag. 438.
1913 — *Trichodectes climax,* Johnston & Harrison, Proc. of the Royal Soc. of Queensland, vol. 24, pag. 22.
1913 — *Trichodectes climax,* Stobbe, Sitzungsberichte der Gesellschaft Naturforschender Freunde, pag. 381.
1915 — *Trichodectes climax,* Kellogg & Ferris, The Anoplura and Mallophaga of North American Mammals, Leland Stanford Junior University Publications, University Series, pag. 57.
1916 — *Trichodectes caprae,* Harrison, Parasitology, vol. 9, pag. 69.
1920 — *Trichodectes caprae,* Bedford, 7th. and 8th. Reports of the Director of Veterinary Services of South Africa, pags. 722, pl. 6, fig. 1.
1924 — *Trichodectes climax,* Seguy, Les Insectes Parasites de l'Homme et des Animaux Domestiques, pag. 47, fig. 31.

1929 — *Bovicola caprae,* Ewing, Manual of External Parasites, pags. 123 e 193.
1929 — *Bovidoecus caprae,* Bedford, 15th. Annual Report of the Director of Veterinary Services, Union of South Africa, pag. 519.
1931 — *Trichodectes caprae,* Pathon, Insects, Ticks, Mites and Venomous Animals, part 2, pag. 31, fig. 21.
1932 — *Bovicola caprae,* Bedford, 18th. Report of the Director of Veterinary Services and Animal Industry, South Africa, pag. 361.

HOSPEDADOR TYPO: — *Capra hircus.*

ESPECIMENS EXAMINADOS: — Grande numero de exemplares colhidos em cabra domestica (*Capra hircus*) de diversas regiões do Brasil, Argentina e Estados Unidos.

Examinamos, tambem, uma série de lamínas pertencentes ao Museu Britannico, com material colhido em opossum, *Circus maculosus*, *Ostinops viridis*, *Florida coerulea*, *Pilerodus pileatus* e *Fluvicola pica*, com os seguintes dizeres em todos os rotulos: « Brit. Guiana, Georgetown, 1912-373, R. Rodway coll. Pres. by Hon. N. C. Rothschild ». Houve engano evidente na rotulagem deste material, que, assim, perde todo interesse.

DESCRIPÇÃO: — Femea (fig. 175). Comprimento: 1.88 mm.

Cabeça pouco mais larga do que longa, tendo a fórma approximada dum circulo. A margem anterior, ligeiramente reentrante na linha mediana, apresenta grande numero de cerdas longas e delgadas e, em suas extremidades lateraes, duas grandes trabeculas, quasi tão longas quanto o primeiro articulo antennal; a occipital é recta e pequena e as temporaes arredondadas, em curva de grande raio. Na face superior se encontram faixas pigmentadas ao longo das margens da cabeça, além de duas occipitaes recurvadas, que reunem o bordo posterior ao anterior. Ha, ainda, alguns pellos pequenos, implantados, de preferencia, nas regiões temporaes. Na face inferior existe, apenas, duas faixas parallelas na metade posterior da cabeça, em relação com as zonas de intensa chitinisação situadas nas regiões anterolateraes, onde se localisam quasi todos os pellos desta face.

As temporas não são salientes e os olhos são pequenos.

Antennas longas e delgadas, formadas de tres segmentos, dos quaes o primeiro é o mais curto e grosso e o segundo o mais longo. Os pontos em que se inserem, acham-se situados em meio do comprimento da cabeça.

Thorax curto e largo. Prothorax subtrapezoidal e metathorax com bordos lateraes salientes e posterior concavo; ambos com uma fila de pellos nas margens posteriores, sendo a primeira, entretanto, formada por um menor numero destes elementos. Na face inferior nada mais ha a referir sinão o es-

clerito que commumente se encontra entre os quadrís anteriores e medianos.

Membros thoracicos da forma habitual; os dos dois ultimos pares iguaes e os do primeiro par menores que os restantes.

Abdomen longo, oval, com as margens ligeiramente reentrantes nos pontos correspondentes ás suturas de seus segmentos, onde se encontram algu-

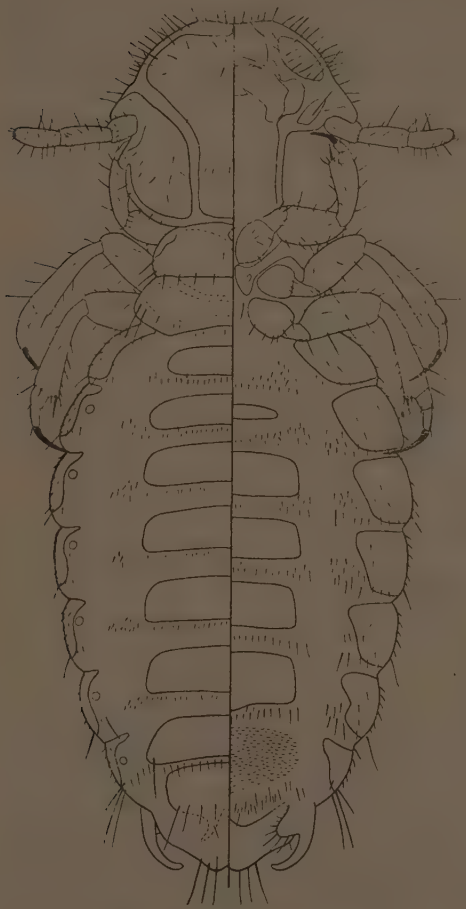


Fig. 175 — *Trichodectes caprae*, femea.

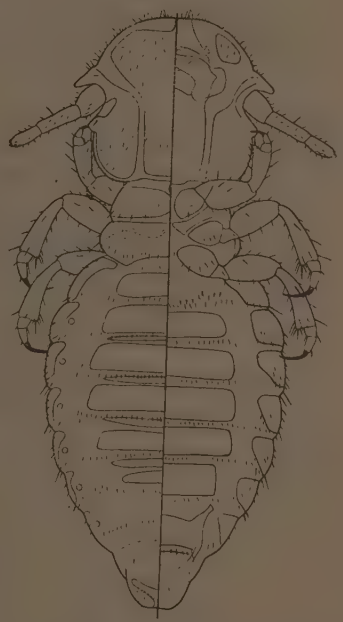


Fig. 176 — *Trichodectes caprae*, macho.

mas cerdas maiores, sobretudo nas visinhanças da extremidade posterior do abdomen, e sete pares de placas pleuraes escuras, cujo tamanho decresce de deante para traz, guarnecidas de pequenos pellos e particularmente desenvolvidas na face inferior. A extremidade livre do abdomen, apresenta dois peque-

nos lobulos terminaes, tendo, cada um, tres ou quatro cerdas longas. Em sua face superior ha oito manchas escuras, das quaes as sete primeiras são alongadas e dispostas transversalmente; a oitava, devido á imprecisão da borda posterior, tem fórma mais difficil de ser definida e irregular. Entre estas manchas, corre uma fila de pequenos pellos implantados nas margens posteriores dos segmentos typicos. Na face inferior se encontram, tambem, manchas pigmentadas identicas ás tergaes, mas em numero menos elevado. Entre a ultima placa esternal e a genitalia, ha uma zona escura, de limites mal definidos, em que o tegumento se apresenta escamoso.

Genitalia (fig. 177) formada por duas gonapophyses longas, com um lobulo nas margens internas, guarnecido de algumas cerdas, na maioria de pequeno comprimento. Ha ainda uma linha, reentrante na região mediana, ao longo da qual grande numero de pellos pequenos se dispõem em fila irregular.

Fig. 177 — *Trichodectes caprae*, genitalia da femea.

Fig. 178 — *Trichodectes caprae*, genitalia do macho.

Macho (fig. 176). Comprimento: 1.49 mm.

Nos individuos deste sexo nota-se um ligeiro augmento no diametro do primeiro segmento antennal, quando comparado com os demais articulos do mesmo orgão. As placas tergaes, excepção da primeira, são divididas transversalmente em duas outras. A principal differença, porém, se encontra na fórma do abdomen, mais accentuadamente oval e com a extremidade posterior em ponta aguda.

Genitalia (fig. 178). Placa basal grande, de margens parallelas, com o

quarto posterior mais largo que a porção proximal e cujo comprimento representa oito nonos do comprimento total do apparelho copulador, quando em repouso. Parameros pequenos, fortes e recurvados. Além destas peças principaes, outras ha, cuja significação desconhecemos, contribuindo para o aspecto caracteristico da genitalia.

Nota: — Nitzsch denominou *Trichodectes climax* um parasito que encontrou na cabra domestica, sem descrevel-o ou dar qualquer outra informação. Nestas condições sua especie tornou-se irreconhecivel, visto ser a cabra parasitada por varias especies do mesmo genero e o nome *climax* deve ser considerado nú, embora mais tarde fosse attribuido a um dos *Trichodectes* habitualmente encontrados neste hospedador. Antes disto, porém, o nome *caprae* havia sido estabelecido por Gurlt e, portanto, deve prevalecer.

Parece-nos que o desenho publicado por Gervais representa *Trichodectes crassipes* Rudow (= *T. penicillatus* Piaget = *T. hermsi* Kellogg & Nakayama) e não *Trichodectes caprae* Gurlt. Neste caso o nome *T. climax* Nitzsch deveria ser usado em substituição ao proposto por Rudow. Entretanto, na ausencia duma convicção absoluta, achamos mais acertado, admittir o contrario, de accôrdo com a opinião até hoje adoptada, evitando, assim, maior confusão na nomenclatura destes parasitos.

### 15. **Trichodectes limbatus** Gervais

1844 — *Trichodectes limbatus*, Gervais, Histoire Naturelle des Insectes de Walkenaer, Aptères, vol. 3, pag. 313-314, pl. 48, fig. 4.

1874 — *Trichodectes limbatus*, Giebel, Insecta Epizoa, pag. 57.

1878 — *Trichodectes limbatus*, Gulrt, Archiv für Naturgeschichte, vol. 44, pag. 166.

1880 — *Trichodectes limbatus*, Piaget, Les Pediculines, pag. 395.

1896 — *Trichodectes limbatus*, Osborn, Bul. 5, n. s., Div. of Entomology, U. S. Dept. of Agriculture, pag. 206 e 237, fig. 129.

1903 — *Trichodectes limbatus*, Morse, The American Naturalist, vol. 37, pag. 615, figs.

1900 — *Trichodectes limbatus*, Kellogg, Proc. of the U. S. Nat. Museum, vol. 22, pag. 68

1908 — *Trichodectes limbatus*, Kellogg, Genera Insectorum, fas. 66, pag. 7.

1914 — *Trichodectes painei*, Kellogg & Nakayama, Psyche, vol. 21, pags. 90-92, fig. 1.

1915 — *Trichodectes painei*, Kellogg & Ferris, The Anoplura and Mallophaga of North American Mammals, Leland Stanford Junior University Publications, University Series, pag, 65.

1916 — *Trichodectes painei*, Harrison, Parasitology, vol. 9, pag. 71.

1920 — *Trichodectes painei,* Bedford, 7th. and 8th. Reports of the Director of Veterinary Reseach, South Africa, pags. 721-722, pl. 6, fig. 2.

1929 — *Bovicola limbatus,* Ewing, Manual of External Parasites, pag. 123.

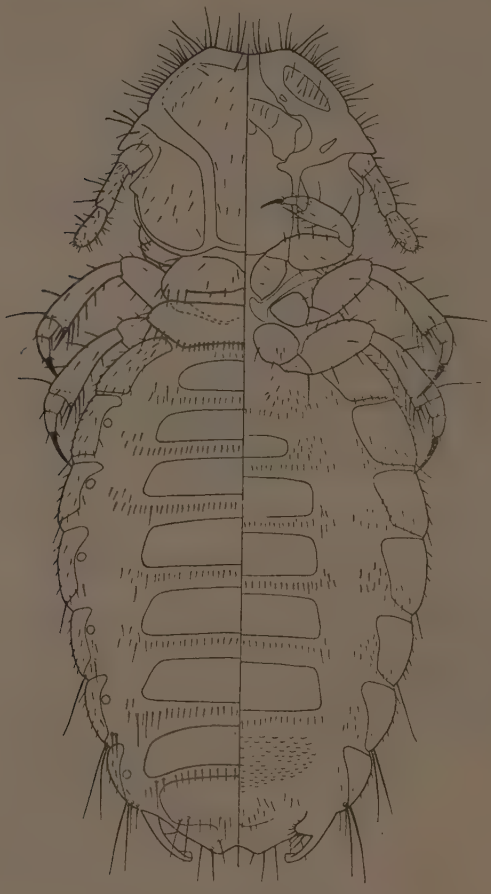


Fig. 179 — *Trichodectes limbatus,* femea.

1929 — *Bovidoecus painei,* Bedford, 15th. Annual Report of the Director of Veterinary Services, South Africa, pag. 519.

1932 — *Bovicola painei,* Bedford, 18th. Report of the Director of Veterinary Services and Animal Industry, South Africa, pag. 362.

HOSPEDADOR TYPO: — *Capra hircus.*

Hospedadores outros: — Kellogg & Nakayama descreveram a especie acima, como se fôra nova, de exemplares encontrados em *Corvus semicinctus* e *Haematopus frazari*, de accôrdo com as indicações que acompanhavam o material colhido por R. C. Mc. Gregor numa expedição ás ilhas da Baixa California. Muito acertadamente, porém, não attribuiram os parasitos ás aves acima citadas, descrevendo-os como de hospedador desconhecido. Coube á Bedford indicar os verdadeiros hospedadores desta supposta nova especie.

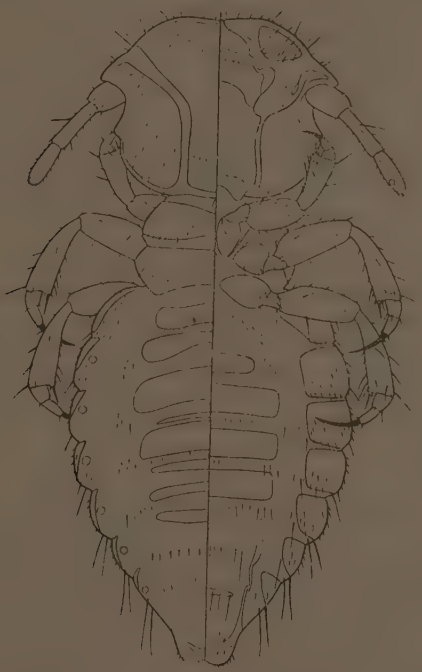


Fig. 180 — *Trichodectes limbatus*, macho.

O *Trichodectes limbatus*, tem sido referido como parasito da cabra domestica e da de Angorá.

Especimens examinados: — Numerosos exemplares de ambos os sexos, encontrados em cabra domestica (*Capra hircus*) de Manguinhos (Districto Federal, Brasil).

Descripção: — Femea (fig. 179). Comprimento: 1.85 mm.

A porção pré-antennal da cabeça é limitada por uma margem anterior, ligeiramente reentrante, e duas anterolateraes, em cujas extremidades sé en-

contram trabeculas pouco mais curtas que o primeiro segmento antennal; a postantennal por dois bordos temporaes curvos e um occipital recto. As duas dimensões são quasi iguaes, a largura excedendo apenas ao comprimento, e os angulos formados pela reunião das margens são arredondados de modo que a fórma geral da cabeça é mais circular que polygonal. Na face superior ha duas grandes faixas escuras, parallelas na metade posterior da cabeça, ligando o bordo occipital ás extremidades distaes dos anterolateraes e outras menores ao longo de todas as margens; na inferior as zonas de maior espessamento do tegumento se encontram, quasi que exclusivamente, junto ás margens anterolateraes, poisque, na porção posterior da cabeça, ha sómente duas faixas delgadas e parallelas. A maioria dos pellos se implantam nas margens anteriores; outros, de menor comprimento, se encontram dispersos na face superior ou reunidos em dois grupos situados na face inferior da cabeça, nas areas circumdadas de forte chitinisação existentes nas proximidades das margens anterolateraes.

Os olhos são pequenos e as temporas não salientes.

Antennas delgadas e longas, tendo os articulos quasi o mesmo diametro; Apenas o primeiro é ligeiramente mais grosso. Quanto ao comprimento dos mesmos, nota-se, porém, maior variação, sendo o segundo sensivelmente mais longo que os outros dois.

Thorax curto e largo, tendo esta ultima dimensão o dobro da primeira. Prothorax trapeziforme, mais estreito e mais comprido que o metathorax, cujas margens lateraes são fortemente salientes e a posterior concava. Na face superior do thorax ha alguns pequenos pellos irregularmente implantados no prothorax e outros, dispostos em fila, no metathorax; na inferior, nada mais existe além do esclerito normalmente encontrado entre os quadris anteriores e medianos.

Membros normaes, os anteriores menores que os demais, e sem particularidade de interesse.

Abdomen largo, oval, com as margens reentrantes ao nivel das suturas de seus segmentos. Na face tergal se encontram oito placas escuras, alongadas e dispostas transversalmente, cujas areas augmentam gradativamente de deante para traz. Na face esternal ha tambem, formações identicas ás que acabamos de nos referir; seu numero, entretanto, é menor. O tamanho das placas pigmentadas dos pleuritos varia em sentido inverso, sendo as anteriores maiores que as posteriores. Entre as diversas placas tergaes e esternaes, correspondendo ás margens posteriores dos segmentos typicos, se encontram filas regulares de pellos curtos, tendo nas extremidades pequenos grupos formados por cerdas semelhantes e irregularmente implantadas. Nos pleuritos, estes elementos se encontram dispersos, quer nas zonas pigmentadas, quer em suas immediações, e não apresentam maior interesse. Deve-se notar, porém, duas cerdas longas que se encontram nas margens posteriores dos ultimos pleuritos.

Junto as margens abdominaes ha seis pares de estigmas respiratorios, voltados para cima.

Genitalia (fig. 181) formada de gonopodos curvos, tendo nas bordas internas lobulos salientes e guarnecidos por pequenas cerdas.

Macho (fig. 180). Comprimento: 1.42 mm.

Distingue-se da femea pela fórma da cabeça, na qual a porção anterior é mais curta e arredondada. As differenças principaes, porém, se encontram no abdomen, cuja fórma é mais accentuadamente oval. Deve-se notar ahi a ausencia de placas tergaes nos ultimos segmentos typicos, a divisão transversal das mesmas nos tergitos medianos e, sobretudo, a margem posterior reentrante do segmento em que se acha o primeiro par de estigmas

Fig. 181 — *Trichodectes limbatus*, genitalia da femea.

Fig. 182 — *Trichodectes limbatus*, genitalia do macho.

respiratorios. Na face ventral, as zonas pigmentadas dos esternitos posteriores, se reunem formando uma grande placa genital.

Genitalia muito caracteristica, como se acha representado na fig. 182, onde se pode ver uma placa basal longa, com o terço posterior dilatado, dois parameros fortes e encurvados, além de outras estructuras que contribuem para o aspecto typico da mesma.

Nota: — A distincção entre esta especie e a anteriormente estudada só póde ser feita pelo confronto dos machos, cujas genitalias são absolutamente differentes. A margem posterior reentrante do segundo segmento abdominal de *Trichodectes limbatus* permitte, tambem, distinguil-o facilmente de *Trichodectes caprae*. Nestas condições, a caracterisação das especies só se tornou nitida com a publicação do trabalho de Osborn, em que ambos os machos foram desenhados.

É fóra de qualquer duvida que a especie descripta por Kellogg & Nakayama com o nome de *Trichodectes painei* é identica a que Osborn determinou como *Trichodectes limbatus*. O procedimento de Har-

rison, adoptado por Bedford, considerando *Trichodectes painei* especie valida e identificando *Trichodectes limbatus* á *Trichodectes penicillatus* e *Trichodectes hermsi* é absolutamente inaceitavel, por se encontrar em franco desaccordo com as figuras publicadas, não só nas descripções originaes como no trabalho de Osborn.

Á esta ultima especie deve ser dado o nome de *Trichodectes crassipes*, em vista do resultado do exame procedido por Taschemberg no material typico de Rudow.

### 16. **Trichodectes bovis** (Linnaeus)

1746 — *Pediculus bovis,* Linnaeus, Fauna Suecica, pag. 338, n.º 1155.
1758 — *Pediculus bovis,* Linnaeus, Systema Naturae, 10.ª ed., pag. 611.
1775 — *Pediculus bovis,* Fabricius, Systema Entomologiae, pag. 805.
1776 — *Pediculus bovis,* Müller, Zoologiae Danicae Prodromus, pag. 185.
1781 — *Pediculus bovis,* Fabricius, Species Insectorum, pag. 477.
1787 — *Pediculus bovis,* Fabricius, Mantissa insectorum, vol. 2, pag. 368.
1794 — *Pediculus bovis,* Fabricius, Entomologia Systematica, vol. 4, pag. 419.
1803 — *Pediculus bovis,* Latreille, Histoire Naturelle, Generale et Particulière, des Crustaces et des Insectes, vol. 8, pags. 97-98.
1805 — *Pediculus bovis,* Fabricius, Systema antliatorum, pag. 342.
1816 — *Pediculus tauri,* Olfers, De vegetativis et animatis corporibus in corporibus animatis referiundis commentarius, pag. 85.
1817 — *Pediculus bovis,* Stewart, Elements of the natural history of the animal kingdom, vol. 2, pag. 298.
1818 — *Trichodectes scalaris,* Nitzsch, Magazin der Entomologie de Germar, vol, 3, pag. 296.
1829 — *Trichodectes scalaris,* Stephens, A systematic catalogue of British insects, vol. 2, Haustellata, pag. 330.
1838 — *Trichodectes scalaris,* Burmeister, Handbuch der Entomologie, vol. 2, pag. 436.
1842 — *Trichodectes scalaris,* Denny, Monographia Anoplurorum Britanniae, pags. 61 e 191, pl. 17, fig. 9.
1844 — *Trichodectes scalaris,* Gervais, Histoire Naturelle des Insectes de Walkenaer, Aptères, vol. 3, pag. 314.
1857 — *Trichodectes scalaris,* Gurlt, Archiv für Naturgeschichte, vol. 23, pag. 278.
1861 — *Trichodectes scalaris,* Giebel, Zeitschrift f. ges. Naturwiss., vol. XVII, pag. 83, pl. 1, fig. 3.
1874 — *Trichodectes scalaris,* Giebel, Insecta Epizoa, pag. 61-62, pl. 3, figs. 7 e 9.
1878 — *Trichodectes scalaris,* Gurlt, Archiv für Naturgeschichte, vol. 44, pag. 167.
1880 — *Trichodectes scalaris,* Piaget, Les Pediculines, pag. 396-397, pl. 33, fig. 2.

1892 — *Trichodectes scalaris*, Neumann, Traité des Maladies Parasitaires non Microbiennes des Animaux Domestiques, 2.ª ed., pags. 67-68, fig. 30.

1895 — *Trichodectes scalaris*, Railliet, Traité de Zoologie Médicale et Agricole. 2.ª ed., pag. 836, fig. 577.

1896 — *Trichodectes scalaris*, Osborn. Bul. 5, n. s., Div. of Entomology, U. S. Dept. of Agriculture, pags. 209-210, fig. 134, pag. 238.

1900 — *Trichodectes scalaris*, Kellogg, Proc. of the U. S. Nat. Museum, vol. XXII, pag 67.

1903 — *Trichodectes scalaris*, Morse, The American Naturalist, vol. 37, pag. 613, figs.

1908 — *Trichodectes scalaris*, Kellogg. Genera Insectorum, fasc. 66, Mallophaga. pag. 8.

1910 — *Trichodectes scalaris*, Mjöberg, Arkiv för Zoologi, vol. 6, n.º 13, pags. 69 e 260, fig. 40 e 159.

1912 — *Trichodectes scalaris*, Neveu-Lemaire, Parasitologie des Animaux Domestiques, pag. 1107-1108, fig. 739.

1912 — *Trichodectes scalaris*, Paine, Entomological News, vol. 23, n.º 10, pag. 438.

1913 — *Trichodectes bovis*, Johnston & Harrison, Proc. of the Royal Soc. of Queensland, vol. 24, pag. 21.

1915 — *Trichodectes scalaris*, Kellogg & Ferris, The Anoplura and Mallophaga of North American Mammals, Leland Stanford University Publications, University Series, pag. 57.

1916 — *Trichodectes bovis*, Harrison, Parasitology, vol. 9, pag. 69.

1920 — *Trichodectes bovis*, Bedford, 7th and 8th. Reports of the Director of Veterinary Services of South Africa, pag. 722, pl. 6, fig. 3.

1924 — *Trichodectes bovis*, Seguy, Les Insectes Parasites de l'Homme et des Animaux Domestiques, pag. 45, fig. 29.

1926 — *Trichodectes bovis*, Essig, Insects of Western North America, pag. 132, fig. 77.

1928 — *Trichodectes bovis*, Ferris, The Principles of Systematic Entomology, pag. 93, fig. 6A.

1929 — *Bovicola bovis*, Ewing, Manual of External Parasites, pag. 123.

1929 — *Bovidoecus bovis*, Bedford, 15th. Annual Report of the Director of Vet. Services, Union of South Africa, pag. 519.

1932 — *Bovicola bovis*, Bedford, 18th. Report of the Director of Vet. Services and Animal Industry, U. of South Africa, pag. 361.

HOSPEDADOR TYPO: — *Bos taurus*.

HOSPEDADORES OUTROS: — Denny diz ter encontrado a especie occasionalmente, em *Equus asinus*.

ESPECIMENS EXAMINADOS: — Algumas femeas colhidas em boi (*Bos taurus*) na Inglaterra e no Brasil (Rio de Janeiro).

DESCRIPÇÃO: — Femea (fig. 183). Comprimento: 1.55 mm.

Cabeça (fig. 184) tão larga quanto longa, com a porção anterior em ogiva, borda occipital quasi recta e temporas arredondadas, não salientes. Na face superior ha espessamentos do tegumento, em fórma de faixa, margeando todo o contorno da cabeça e reunindo o bordo occipital ao bordo anterior, junto á implantação das antennas. Estas ultimas, correntemente denominadas faixas occipitaes, são subparallelas nos dois terços posteriores e fortemente divergentes no terço anterior. Na face inferior as zonas de chitinisação refor-

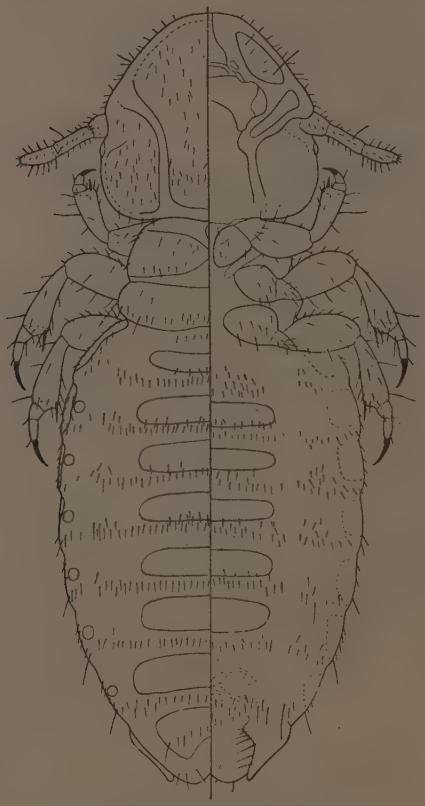


Fig. 183 — *Trichodectes bovis*, femea.

çada são maiores e mais irregulares. A superficie superior e a margem anterior teem grande numero de cerdas pequenas e delicadas; a inferior apresenta apenas algumas cerdas reunidas nas zonas mal chitinisadas que se encontram junto as margens antero-lateraes da cabeça.

As antennas, que se inserem em pequenas cavidades existentes em meio do comprimento da cabeça, são longas e delgadas tendo todos seus articulos quasi o mesmo diametro. Apenas o primeiro é pouco mais grosso que os outros.

O segundo segmento é o mais longo e o primeiro o mais curto. Todos apresentam grande numero de cerdas, muitas das quaes são bastante longas.

Olhos pouco salientes.

O thorax é mais curto e ligeiramente mais estreito que a cabeça. O prothorax é mais longo que o metathorax, tendo o bordo anterior menor que o posterior e os lateraes divergentes. Metathorax mais largo que o primeiro segmento thoracico, com os bordos lateraes salientes e arredondados e o posterior ligeiramente concavo no terço médio. Na face superior do thorax ha um bom numero de pellos pequenos, implantados na região mais pigmentada do prothorax e ao longo da borda posterior do metathorax. Nas extremidades lateraes deste segmento ha algumas cerdas relativamente longas. Na face inferior, entre os quadris dos membros do primeiro e segundo par, existe, de cada lado da linha mediana, um esclerito alongado, em fórma de barra. As extremidades internas dessas formações não se tocam.

Membros thoracicos sem nada de particular.

Fig. 184 — *Trichodectes bovis*, cabeça da femea.

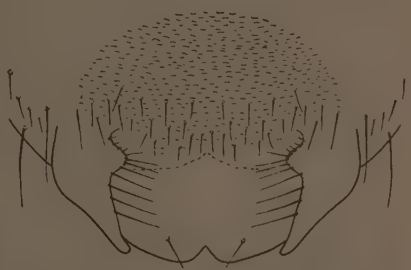


Fig. 185 — *Trichodectes bovis*, genitalia da femea.

Abdomen longo, oval, de margens ligeiramente onduladas. A face superior apresenta oito placas tergaes escuras, estendidas no sentido transversal, cujo tamanho augmenta, gradativamente, de deante para traz. Placas absolutamente identicas se encontram na face inferior; seu numero, entretanto, é ahi menor. Os pleuritos tambem são escuros, com zonas de maior espessamento do tegumento sem limites nitidos. Nas margens posteriores das diversas partes componentes dos segmentos typicos ha grande numero de pequenos pellos, delgados e um tanto irregularmente dispostos.

Junto as margens abdominaes se encontram seis pares de grandes estigmas respiratorios, de abertura voltada para cima.

Genitalia (fig. 185) formada de dois grandes gonopodos, cujas margens internas, ornadas de algumas cerdas, apresentam pequeno lobulo, e de grande placa genital escura e escamosa.

Macho: —

Os machos desta especie são extremamente raros e não nos foi possivel encontrar um unico exemplar. Bedford parece ter sido o unico autor que

teve a fortuna de os observar. Tal raridade faz crêr que seja a parthenogenese o processo commum de reproducção.

O referido autor publicou em 1920 um desenho da genitalia do macho e pelos caracteres assignalados para o genero *Bovidoecus*, então creado, pode-se deduzir que as antennas sejam iguaes as da femea.

## 17. **Trichodectes equi** (Linnaeus).

1746 — *Pediculus equi,* Linnaeus, Fauna Suecica, pag. 1948.
1758 — *Pediculus equi,* Linnaeus, Systema Naturae, 10.ª ed., pag. 611.
1775 — *Pediculus equi,* Fabricius, Systema Entomologiae, pag. 806.
1781 — *Pediculus equi,* Fabricius, Species insectorum, pag. 478.
1787 — *Pediculus equi,* Fabricius, Mantissa insectorum, vol. 2, pag. 368.
1794 — *Pediculus equi,* Fabricius, Entomologia systematica, vol. IV, pag. 419.
1805 — *Pediculus equi,* Fabricius, Systema antliatorum, pag. 342.
1817 — *Pediculus equi,* Stewart, Elements of the natural history of the animal kingdom, vol. 2, pag. 298.
1842 — *Trichodectes equi,* Denny, Monographia Anoplurorum Britanniae, pag. 61 e 191-192, pl. 17, fig. 7.
1844 — *Trichodectes equi,* Gervais, Histoire Naturelle des Insectes de Walkenaer, Aptères, vol. 3, pag. 314.
1852 — *Trichodectes caballi,* Leach, in Denny, List. Brit. An., Part XI, Anoplura, pag. 30.
1857 — *Trichodectes equi,* Gurlt, Archiv für Naturgeschichte, vol. 23, pag. 279.
1861 — *Trichodectes equi,* Giebel, Zeitschrift f. ges. Naturwiss., vol. XVII, pag. 86.
1874 — *Trichodectes pilosus,* Giebel, Insecta Epizoa, pag. 59.
1878 — *Trichodectes pilosus,* Gurlt, Archiv für Naturgeschichte, vol. 44, pag. 165.
1880 — *Trichodectes parumpilosus,* Piaget, Les Pediculines, pags. 397-398, pl. 32, fig. 5.
1882 — *Trichodectes parumpilosus,* Taschemberg, Die Mallophagen, Nova Acta, XLIV, pags. 214-215.
1892 — *Trichodectes parumpilosus,* Neumann, Traité des Maladies Parasitaires non Microbiennes des Animaux Domestiques, 2.ª ed., pag. 67.
1895 — *Trichodectes parumpilosus,* Railliet, Traité de Zoologie Medicale et Agricole, 2.ª ed., pags. 835-836.
1895 — *Trichodectes vestitus,* Railliet, Traité de Zoologie Medicale et Agricole, 2.ª ed., pag. 835, fig. 576.
1896 — *Trichodectes parumpilosus,* Osborn, Bul. 5, n. s., Div. of Entomology, U. S. Dept. of Agriculture, pags. 208-209, fig. 133 e pag. 238.
1900 — *Trichodectes parumpilosus,* Kellogg, Proc. of the U. S. Nat. Mus., vol. 22, pag. 67.
1903 — *Trichodectes parumpilosus,* Morse, American Naturalist, vol. 37, pags. 614-615, figs.

1908 — *Trichodectes parumpilosus,* Kellogg, Genera Insectorum, fasc. 66, pag. 7.
1908 — *Trichodectes pilosus,* Kellogg, Genera Insectorum, fasc. 66, pag. 8.
1910 — *Trichodectes parumpilosus,* Mjöberg, Arkiv för Zoologi, vol. 6, n.º 13, pag 69.
1912 — *Trichodectes parumpilosus,* Neveu-Lemaire, Parasitologie des Animaux Domestiques, pag. 1106, fig. 738.
1912 — *Trichodectes parumpilosus,* Paine, Entomological News, vol. 23, n.º 10, pag. 438.
1913 — *Trichodectes pilosus,* Neumann, Archives de Parasitologie, vol. 15, pag. 626.
1913 — *Trichodectes pilosus,* Johnston & Harrison, Proc. of the Royal Society of Queensland, vol. 24, pag. 20-21.
1914 — *Trichodectes parumpilosus,* Kellogg, The American Naturalist, vol. 48, pag. 265.
1915 — *Trichodectes parumpilosus,* Kellogg & Ferris, The Anoplura and Mallophaga of North American Mammals, Leland Stanford Junior University Publications, University Series, pag. 57.
1916 — *Trichodectes equi,* Harrison, Parasitology, vol. 9, pag. 70.
1916 — *Trichodectes pilosus,* Harrison, Parasitology, vol. IX, pag. 72.
1929 — *Bovidoecus equi,* Bedford, 15th. Annual Report of the Director of Veterinary Services, South Africa, pag. 519.
1932 — *Bovicola equi,* Bedford, 18th. Report of the Director of Veterinary Services and Animal Industry, S. Africa, pag. 361.

HOSPEDADOR TYPO: — *Equus caballus*.

HOSPEDADORES OUTROS: Varios autores assignalam a especie em *Equus asinus* e Neumann a encontrou em *Myocastor coypu*, attribuindo o facto a uma contaminação accidental.

ESPECIMENS EXAMINADOS: — Numerosas femeas colhidas em cavallo (*Equus caballus*) em diversos pontos do Brasil, America do Norte, Europa e Africa do Sul.

DESCRIPÇÃO: — Femea (fig. 186). Comprimento: 1.97 mm.

Cabeça (fig. 187) com a porção anterior limitada por um bordo curvo, de grande raio, e a posterior pela margem occipital recta e as lateraes ligeiramente arredondadas. Na face superior, além da faixa escura encontrada ao longo da borda occipital e das que reunem as extremidades desta faixa á margem anterior da cabeça, deve-se notar grande numero de pellos pequenos implantados, de preferencia, nas regiões temporaes e na porção anterior da cabeça. Na inferior, os pellos são em numero muito menor e apenas se encontram alguns na porção préantennal; as faixas resultantes do espessamento do tegumento occupam, porém, maior superficie e são de forma mais irregular. Temporas arredondadas e não salientes.

As antennas, inseridas em pequenos seios situados em meio do comprimento da cabeça, são longas, delgadas e cobertas por grande numero de

cerdas. O primeiro articulo é mais curto e mais grosso que os outros; o segundo e o terceiro teem o mesmo diametro e quasi o mesmo comprimento.

Olhos pequenos.

Thorax consideravelmente mais curto que a cabeça e quasi tão largo quanto esta. Prothorax tão longo quanto os demais segmentos reunidos, de fórma trapezoidal, com as margens anterior e posterior parallelas e as lateraes divergentes. Metathorax muito mais largo que o prothorax, tendo a mar-

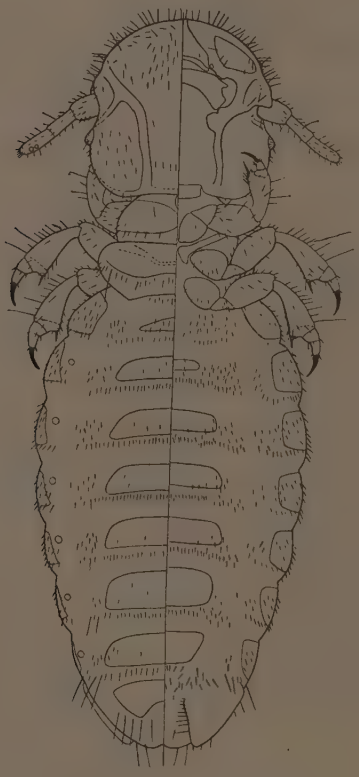


Fig. 186 — *Trichodectes equi*, femea.

gem anterior recta, as lateraes fortemente salientes e a posterior concava. Na face superior se encontram alguns pellos no prothorax e no metathorax, sendo que os deste ultimo segmento se dispoem em fila regular ao longo do bordo posterior; na inferior deve-se notar sómente um espessamento de tegumento entre os quadrís do primeiro e segundo par.

Membros thoracicos sem nada de particular.

Abdomen oval, longo e estreito, com as margens lateraes ligeiramente

onduladas. Na face superior ha oito placas tergaes, escuras, cujo comprimento augmenta gradativamente de deante para traz; a primeira, entretanto, é mais estreita que as outras e a ultima tem fórma propria, com as margens lateraes convergentes e a posterior concava. As placas esternaes são em numero de seis e, tal como succede com as da face superior, augmentam de largura a medida que se approximam da extremidade posterior do abdomen; a pri-

Fig. 187 — *Trichodectes equi*, cabeça da femea.

Fig. 188 — *Trichodectes equi*, genitalia da femea.

meira tambem é mais estreita que as outras. Em cada margem lateral do abdomen ha sete placas pleuraes, cujo tamanho decresce de deante para traz. Os tergitos, pleuritos e esternitos dos segmentos typicos apresentam grande numero de pequenos pellos, que formam uma fila regular ao longo de suas margens posteriores e pequenos grupos nas extremidades destas mesmas filas. Os ultimos segmentos teem algumas cerdas maiores na face superior.

Ha no abdomen seis pares de estigmas respiratorios.

Genitalia (fig. 188) formada de gonopodos grandes com a margem interna guarnecida dum pequeno numero de cerdas.

Macho: —

Não nos foi possivel encontrar um unico exemplar deste sexo, embora o tivessemos procurado com insistencia. São evidentemente muito raros, pois que nenhum dos autores modernos teve melhor sorte do que nós neste particular. Apenas alguns autores antigos a elles se referem, sem fornecer os dados que a technica actual exige. Acreditamos que a especie se reproduza normalmente por parthenogenese.

Nota: — O nome legitimamente attribuivel á especie de *Trichodectes* habitual ao cavallo, da qual nos occupamos aqui, tem sido objecto de discussões e varios são os adoptados pelos autores, as opiniões differindo constantemente. Tão desagradavel situação resulta principalmente do proceder de Piaget. Para justificar nossa preferencia é necessario summariar o que se passou, no decorrer dos annos, com a nomenclatura da especie ora em estudo.

Em 1758, Linnaeus creou o nome *Pediculus equi* para um parasito do cavallo, posteriormente (em 1842) redescripto por Denny com o mesmo nome especifico. Em vista da evidente deficiencia dos dados fornecidos por Linnaeus e na ausencia dos typos deste, a ninguem assiste o direito de afirmar que os parasitos referidos pelos autores citados não fossem identicos. Assim a especie de Linnaeus passou a ser conhecida pelos caracteres assignalados por Denny; em outras palavras: Denny definiu a especie de Linnaeus.

Mais tarde, em 1874, Giebel denominou arbitrariamente *Trichodectes pilosus* a especie de Linnaeus. Devemos notar que este autor não pretendeu ter encontrado uma nova especie; apenas creou um novo nome em substituição ao usado anteriormente. Considerando que a descripção publicada por Giebel coincide com a de Denny, somos forçados a admittir que *Pediculus equi* Lin., *Trichodectes equi* Denny e *Trichodectes pilosus* Giebel sejam nomes que designam uma mesma especie.

Em 1880, Piaget, em seu celebre trabalho Les Pediculines, affirmou que o cavallo é parasitado por duas especies distinctas do genero *Trichodectes*, o que a julgar pelas figuras então publicadas seria fóra de duvida. Apezar disto e apezar da confirmação ulterior de alguns autores, dentre as quaes sobresahe o nome de Mjöberg, não julgamos provada a existencia de duas especies *proprias* ao cavallo; acreditamos mais provavel a hypothese de poder este hospedador, accidentalmente, apresentar parasitos extranhos. A elucidação deste ponto duvidoso, aliás, não influe na solução da questão aqui estudada, pois como quer que

seja devemos admittir que Piaget teve em mãos duas especies differentes.

Um destes parasitos, a que denominou *Trichodectes pilosus*, foi identificado a *T. pilosus* Giebel e a *Pediculus equi* Lin.; o outro, que constituiria uma nova especie — *Trichodectes parumpilosus* —, foi considerado identico a *T. equi* Denny. Tal modo de proceder revela desde logo que Piaget considerava distinctas as especies referidas por Linnaeus e Denny, o que, como já foi dito, é inteiramente absurdo e ilicito. A especie denominada *T. parumpilosus* deveria ser identificada a *P. equi* Lin., já que apresentava as caracteristicas assignaladas por Denny e a a que denominou *T. pilosus* deveria ser considerada como nova. Não tendo procedido assim, Piaget *errou* e um erro não póde ser aceito e prevalecer.

Dois annos depois, Taschemberg verificou, pelo exame do material de Giebel, que a especie denominada por este autor — *T. pilosus* — era identica ao *T. parumpilosus*. Assim ficou provado serem *T. pilosus* Giebel e *T. pilosus* Piaget especies differentes.

Além das razões que acabamos de expôr, o facto de ser o *T. pilosus* Giebel ou *T. parumpilosus* Piaget a especie correntemente encontrada no cavallo nos dá a firme convicção de ter sido a referida por Linnaeus; a outra seria extremamente rara, além de não julgarmos provada sua condição de parasito peculiar a este hospedador. Nenhum dos autores modernos a encontrou e a confirmação dos antigos não nos merece confiança absoluta.

Acreditamos que *T. pilosus* Piaget (*nec* Giebel) seja identico a *T. crassipes* Rudow, parasito habitual da cabra ao qual varios nomes teem sido attribuidos: *T. penicillatus*, *T. hermsi* e *T. limbatus* Harrison (*nec* Gervais).

Piaget descreveu, ainda, duas variedades de *T. parumpilosus*: *ocellata* e *tarsata*.

A primeira muito provavelmente constitue uma especie distincta, em razão de seu hospedador — *Equus burchelli*. Muitos annos antes, em 1844, Gervais já havia notado que os individuos desta especie, existentes no jardim zoologico do Museu de Paris, apresentavam parasitos differentes dos do cavallo.

A segunda, que Piaget attribue aos « pequenos cavallos de Java » será possivelmente identica a especie de Linnaeus.

O exame dos exemplares da collecção Piaget, presentemente no Museu Britannico, torna facil a obtenção de dados precisos sobre estas suppostas variedades. Assim julgamos mais acertado esperar que este se faça, antes de nos pronunciar definitivamente sobre o assumpto.

### 18. **Trichodectes armatus** Neumann

1913 — *Trichodectes armatus*, Neumann, Archives de Parasitologie, vol. 15, pags. 608-611, figs. 1-4.

1916 — *Trichodectes armatus*, Harrison, Parasitology, vol. 9, pag. 69.

HOSPEDADOR TYPO: — *Eriodes arachnoides*, do Brasil.

ESPECIMENS EXAMINADOS: — Duas laminas da collecção Neumann, enviadas gentilmente pelo Prof. A. Martin, com tres femeas e quatro machos pertencentes ao lote typo. As preparações traziam nos rotulos as seguintes indicações: « *Trichodectes armatus* Nn., Sur *Eriodes* (*Ateles*) *arachnoides* (Cou.), Brésil, 18-IX-1893, Göldi ».

Examinamos tambem abundante material colhido no mesmo hospedador (Therezopolis, Est. do Rio de Janeiro, Brasil) e em *Cebus fuscus* (Rio Mutum, Espirito-Santo, Brasil) e que faz parte de nossa collecção.

DESCRIPÇÃO: — Femea (fig. 189). Comprimento: 2.60 mm.

Cabeça subpentagonal, com dois bordos antero-externos, dois postero-externos e um posterior, consideravelmente mais larga do que longa e com a porção pré-antennal muito maior que a post-antennal. Em seu contorno se encontram tres reentrancias profundas, em fórma de U: a primeira, mediana na extremidade anterior e as outras nas extremidades lateraes, envolvendo o primeiro segmento antennal. As margens temporaes, fortemente convergentes, se unem á occipital de modo que a porção post-antennal poderia ser considerada como limitada por um unico bordo, ligeiramente curvo, dando origem ás duas saliencias lateraes da cabeça, onde, como já foi dito, ha profundos sulcos para implantação das antennas.

As margens da cabeça são bordadas de faixas escuras e bem marcadas de tegumento espessado. Na face superior se encontram duas destas formações, encurvadas, reunindo o bordo occipital aos antero-lateraes e na inferior, duas outras na metade posterior da cabeça. Nos pontos de encontro destas faixas com as marginaes, ha, geralmente, nodulos chitinosos salientes, particularmente volumosos no terço posterior das bordas antero-lateraes. Da mesma natureza são duas grandes saliencias, em fórma de gancho com a ponta voltada para traz, existentes na extremidade anterior e em ambas as faces da cabeça, junto a profunda reentrancia ahi encontrada e que tanta attenção despertam.

Pellos raros e pequenos; quasi todos marginaes e sem interesse para o reconhecimento da especie.

Antennas pequenas, formadas de tres segmentos de diametro approximadamente igual, sendo o primeiro mais comprido que os outros, iguaes em tamanho. Estes orgãos se implantam em grandes cavidades, limitadas anteriormente por um prolongamento das margens antero-lateraes, em fórma de trabecula, e posteriormente por uma saliencia onde possivelmente se encontram os olhos.

Thorax mais curto e mais estreito que a cabeça. Prothorax rectangular, com um par de estigmas respiratorios nos bordos externos. Metathorax de menor comprimento que o prothorax, com as extremidades lateraes arredondadas e salientes e a margem posterior concava, ao longo da qual ha uma fila de pellos curtos. Na face inferior do thorax, se encontram, entre os quadrís anteriores e medianos, dois escleritos, cujas extremidades internas, dilatadas, quasi se tocam na linha mediana.

Membros sem particularidade interessante; os do primeiro par pequenos, os outros maiores e iguaes entre si.

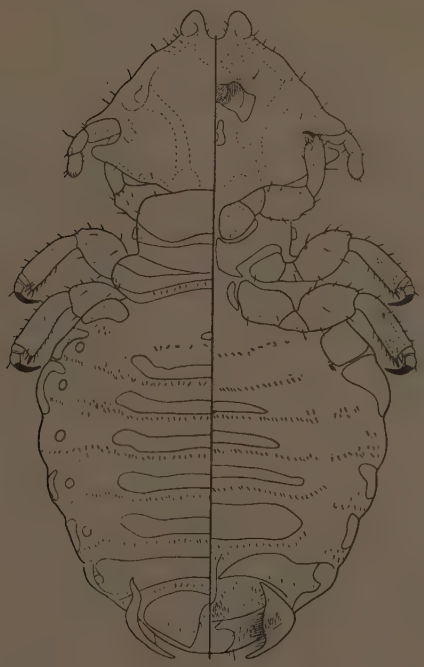


Fig. 189 — *Trichodectes armatus*, femea.

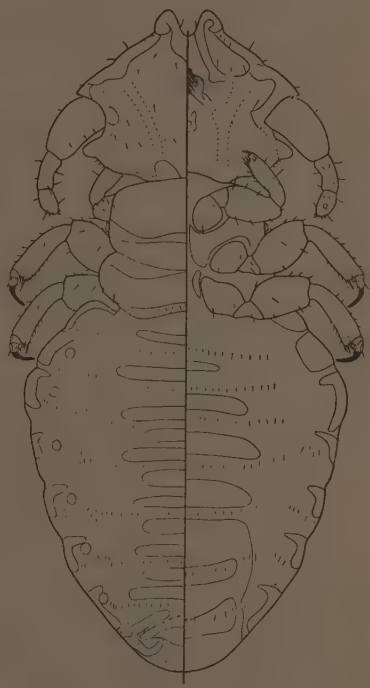


Fig. 190 — *Trichodectes armatus*, macho.

Abdomen oval, tão largo quanto longo. Na face superior existe uma serie de placas tergaes fortemente chitinisadas. Destas, a primeira é muito pequena, as medianas são longas e teem as extremidades mais ou menos torcidas para a frente, a penultima occupa toda a largura do abdomen, estendendo-se entre os estigmas do sexto par e a ultima apresenta notavel estrangulamento na linha mediana que quasi a divide ao meio. Na face inferior se encontram, tambem, escleritos da mesma natureza, em menor numero porém, pois que o primeiro corresponde ao terceiro da face superior. As margens abdominaes são bordadas de verdadeiras placas pleuraes, cujo tamanho, dum

modo geral, decresce de deante para traz.. É curioso a ausencia destas placas ao nivel dos estigmas do terceiro par. Em cada segmento abdominal se encontra, ao longo do bordo posterior, uma carreira regular de pequenos pellos.

Genitalia formada de gonopodos grandes e fortes, em fórma de concha, apresentando na borda interna grande numero de cerdas voltadas para dentro. Muitos pellos são ainda encontrados na região genital, que, por sua disposição, dão a esta um aspecto caracteristico (fig. 191).

Macho (fig. 190). Comprimento: 2.65 mm.

A cabeça do macho differe ligeiramente da cabeça da femea, devido a grande abertura da fossa de inserção das antennas, cujo primeiro articulo é consideravelmente maior no macho.

Fig. 191 — *Trichodectes armatus*, genitalia da femea.

Fig. 192 — *Trichodectes armatus*, genitalia do macho.

Abdomen de fórma oval mais accentuada e com maior numero de escleritos tergaes, que em alguns segmentos se apresentam aos pares. Na face inferior do mesmo, os ultimos escleritos se acham reunidos pelas extremidades lateraes. Contrariamente ao que se observa na femea, encontram-se, ao nivel dos estigmas do terceiro par, pequenas placas pleuraes

Genitalia (fig. 192) formada de placa basal larga, ligeiramente mais estreita na extremidade posterior, de placa endomeral ovoide, dividida por uma fenda mediana em quasi toda sua extensão e por duas peças lateraes, representando possivelmente o pseudo-penis. Vesicula-penis com uma fila de grandes espinhos.

## 19. **Trichodectes semiarmatus** Neumann

1913 — *Trichodectes semiarmatus*, Neumann, Archives de Parasitologie, tomo 15, pags. 611-612, fig. 5

1916 — *Trichodectes semiarmatus*, Harrison, Parasitology, vol. IX, pag. 72.

HOSPEDADOR TYPO: — *Mycestes fuscus*, do Brasil.

ESPECIMENS EXAMINADOS: — Numerosos exemplares colhidos em *Mycestes caraya*, dos Estados de São Paulo e Matto-Grosso, em *Cebus fuscus* de Resplendor e do Rio Mutum (Espirito-Santo, Brasil) e em *Cebus belzebul*, de Marabá, no Rio Tocantins.

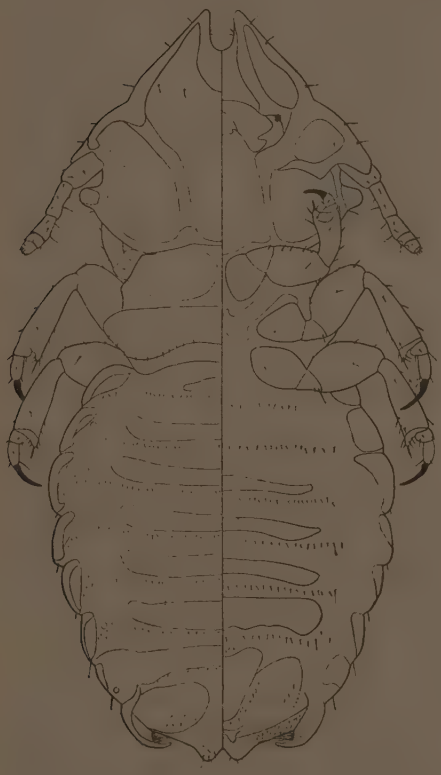


Fig. 193 — *Trichodectes semiarmatus*, femea.

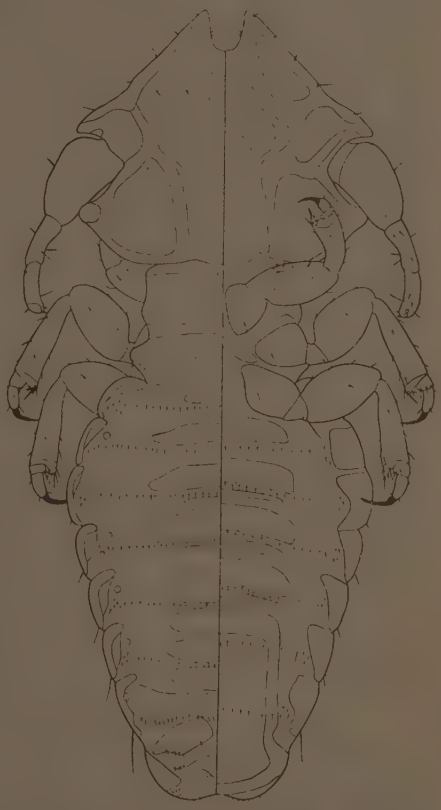


Fig. 194 — *Trichodectes semiarmatus*, macho.

DESCRIPÇÃO: — Femea (fig. 193). Comprimento: 2.00 mm.

Cabeça subpentagonal, com dois bordos anteriores, dois lateraes e um posterior, apresentando tres fortes reentrancias: uma anterior e mediana e duas lateraes, no ponto de implantação das antennas. A porção pré-antennal, triangular, é sensivelmente maior que a post-antennal. Na face superior, como na inferior, ha zonas de chitinisação intensa, formando, as da primeira, faixas escuras e bem delimitadas, dispostas como se acha representado na fig. 193. Os

pellos são raros, pequenos e se encontram, quasi todos, junto ás margens da cabeça.

Tuberculos oculares grandes e fortemente salientes

Antennas formadas de cinco segmentos, sendo o primeiro o maior e os dois ultimos os menores. O segundo, do mesmo comprimento que o primeiro, é mais fino que este. Os tres ultimos articulos são nitidamente delimitados, embora se possa notar evidente tendencia á formação dum unico segmento terminal.

O thorax é curto, tendo de comprimento apenas a metade de sua largura maxima. Visto de cima parece formado de dois segmentos: o anterior mais estreito que o posterior, cujas extremidades lateraes são fortemente salientes. Ambos possuem parte das faces pigmentadas fracamente. Na face inferior do thorax, deve-se notar duas formações chitinosas, alongadas entre os quadrís dos primeiros pares de membros, cujas extremidades internas, dilatadas, se tocam na linha mediana.

Membros thoracicos sem nada de particular e como se acham representados na fig. 193.

Abdomen largo e curto, ovoide, tendo de comprimento pouco mais que de largura e com as margens lateraes ligeiramente onduladas e guarnecidas de placas pleuraes fortemente chitinisadas. Pode-se dizer, dum modo geral, que o tamanho destas diminue de deante para traz. A terceira, entretanto, parece ser a maior, devido ao grande desenvolvimento que apresenta no angulo anterior da porção ventral.

Na face superior ha oito placas tergaes fortemente chitinisadas e escuras. A primeira é a menor, a penultima a maior, occupando toda a largura do abdomen, de margem á margem, a ultima é interrompida na linha mediana, donde resultam duas grandes placas lateraes. As outras são, approximadamente, iguaes.

Na face inferior o numero de placas é menor: quatro, sómente.

Em ambas as faces, se encontra ao longo dos bordos posteriores dos segmentos abdominaes, numerosos pequenos pellos dispostos em fila simples e regular.

A genitalia (fig. 195) é formada de dois grandes gonopodos, em fórma de concha, que ultrapassam as margens do abdomen, tendo um dos bordos livres guarnecidos de cerdas fortes, voltadas para dentro. Na linha mediana ha uma formação, curiosa e typica, representada por dois pequenos tuberculos revestidos de numerosos e pequenos pellos. Placa genital alongada, em fórma de cunha, mais larga na parte anterior

Macho (fig. 194). Comprimento: 2.17 mm.

Differe um pouco da femea:

As antennas, formadas de tres unicos segmentos, são inteiramente diversas das encontradas nesta, não só pelo numero mais reduzido de articulos, como pela fórma que estes apresentam. O primeiro é, particularmente, grande, do que resulta maior abertura da reentrancia da margem lateral da cabeça onde se articula e, consequentemente, modificação na relação de comprimento entre as regiões pré e post-antennal.

O abdomen é mais longo e de fórma bem differente, devido ao accentuado estreitamento que apresenta a partir do terceiro pleurito. Em ambas as faces, diversos segmentos teem placas tergaes e esternaes duplas, o que não succede na femea.

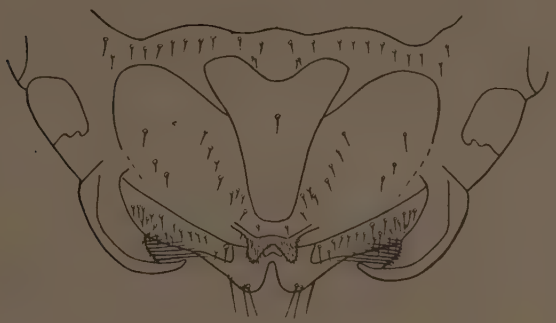


Fig. 195 — *Trichodectes semiarmatus*, genitalia da femea.

Fig. 196 — *Trichodectes semiarmatus*, genitalia do macho.

A genitalia (fig. 196) é bastante simples e formada, principalmente, duma placa basal de margens lateraes parallelas e fortemente chitinisadas, dum grande pseudopenis em fórma de U e de parameros reunidos pela extremidade proximal. Na vesicula penis ha duas carreiras de espinhos fortes.

## 20. **Trichodectes dorcelaphi** n. sp.

Hospedador typo: — *Dorcelaphus besoarticus*, de Chapada, Est. de Matto-Grosso, Brasil.

Especimens examinados: — Os do lote typo, constituido por femeas, machos e fórmas immaturas.

Descripção: — Femea (fig. 197). Comprimento: 1.53 mm.

A cabeça (fig. 199) é tão longa quanto larga e de fórma subpentagonal; as duas margens antero-lateraes são ligeiramente curvas e separadas por uma grande reentrancia existente na extremidade anterior da cabeça; as lateraes e a posterior são quasi rectas. Na face superior ha uma faixa escura, ao longo da margem occipital, que se divide em quatro ramos, dos quaes dois se estendem ao longo das regiões temporaes e dois atravessam a referida face em di-

recção ás extremidades posteriores das margens antero-lateraes da cabeça. Além destas, se encontra uma outra, ao longo das margens anteriores, particularmente larga em volta da escavação da extremidade anterior da cabeça, apresentando um ponto dilatado junto ás antennas. Na face inferior, o espessamento do tegumento tem fórma menos regular, como se pode ver na fig. 199. Os pellos da cabeça são pequenos e em numero insignificante; quasi todos se encontram junto ás suas margens. Temporas arredondadas e não salientes. Antennas delgadas, formadas de tres segmentos, sendo o primeiro mais curto e ligeiramente mais grosso que os outros e o segundo o mais longo. Olhos pequenos.

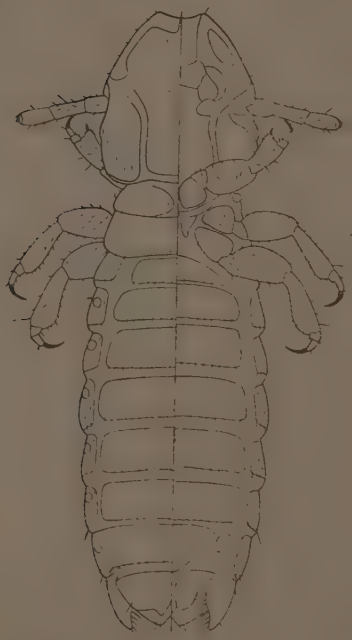


Fig. 197 — *Trichodectes dorcelaphi*, femea.

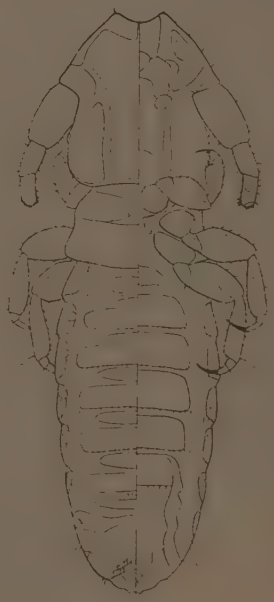


Fig. 198 — *Trichodectes dorcelaphi*, macho.

Thorax curto e largo, subtrapezoidal e apparentemente formado por dois unicos segmentos, subtrapezoidaes tambem; o prothorax é mais estreito que o metathorax. Na face superior ha, sómente, á mencionar a presença de alguns pellos curtos dispostos em fila ao longo da margem posterior do metathorax, além de quatro outros implantados nas areas pigmentadas do prothorax; na inferior deve-se notar duas faixas escuras, entre os quadrís dos membros do primeiro e segundo par, com as extremidades internas fortemente dilatadas. Os estigmas respiratorios se encontram junto ás margens lateraes do prothorax, teem a abertura voltada para baixo e são bastante salientes.

Os membros thoracicos apresentam a fórma commum, sendo os dois ultimos pares ligeiramente mais longos que os do par anterior. Nas extremi-

dades distaes das tibias dos membros medianos e dos posteriores, não se encontram as cerdas habitualmente ahi existentes, fortes como espinhos, e que se oppõem aos tarsos e unhas.

Abdomen longo e estreito, duas vezes mais comprido do que largo, tendo as margens ligeiramente onduladas e quasi parallelas. Nos segmentos typicos se encontram placas tergaes, esternaes e pleuraes; os tergitos e esternitos com uma fila de pellos pequenos nas margens posteriores e os pleuritos com cerdas identicas irregularmente dispostas. A extremidade posterior do abdomen é bilobulada. Junto ás margens lateraes ha seis pares de estigmas respiratorios, de abertura voltada para cima.

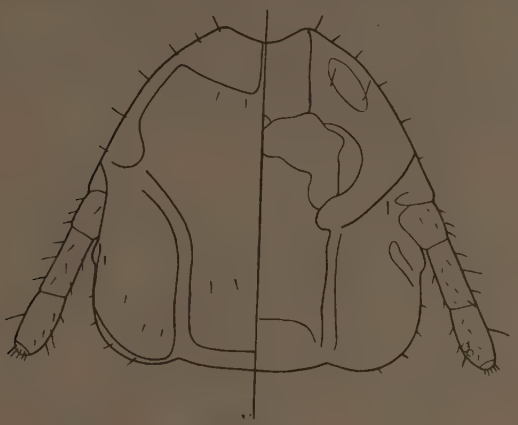


Fig. 199 — *Trichodectes dorcelaphi*, cabeça da femea.

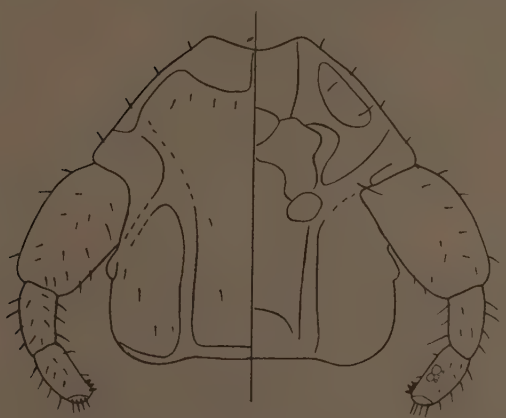


Fig. 200 — *Trichodectes dorcelaphi*, cabeça do macho.

A genitalia (fig. 201) tem dois grandes gonopodos, com as margens internas guarnecidas de cerdas longas, entre os quaes ha duas placas pigmentadas, grandes tambem e com alguns pellos curtos. Na região mediana, junto á extremidade posterior do abdomen, deve-se notar uma pequena formação alongada com a borda distal livre.

Macho (fig. 198). Comprimento: 1.47 mm.

O macho apresenta como principal caracter sexual secundario accentuada differença de fórma e tamanho das antennas, do que resulta ligeira modificação na fórma da cabeça, devido ao augmento das fossas de implantação das antennas, tal como se verifica na fig. 200.

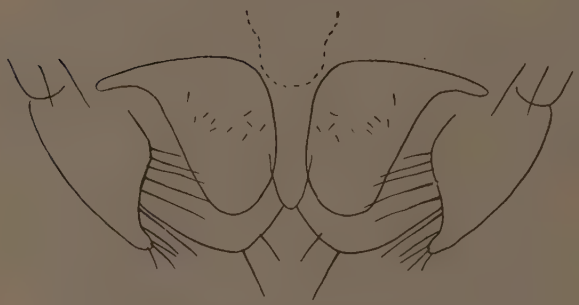


Fig. 201 — *Trichodectes dorcelaphi*, genitalia da femea.

Fig. 202 — *Trichodectes dorcelaphi*, genitalia do macho.

As placas tergaes, excepção feita para a primeira, são divididas transversalmente, de modo que cada tergito tem duas placas: uma anterior pequena e uma posterior grande.

A extremidade posterior do abdomen não é bilobulada, como succede na femea, e apresenta pequena saliencia na linha mediana, como representamos na fig. 203.

Genitalia (fig. 202) formada de placa basal de margens espessas e parallelas, pseudo-penis em fórma de V e duma peça endomeral com dois grandes ramos, orientados em sentido opposto aos do pseudo-penis. Na fig. 204 representamos esta ultima peça em escala maior, dado seu valor, na caracterisação da especie.

Typo: — Lamina 1694, com uma femea.

Allotypo: — Lamina 1699, com um macho.

Paratypos: — Laminas 1692, 1693 e 1695 com 3 femeas e 1696, 1697 e 1698 com 3 machos. Grande numero de exemplares de ambos os sexos e fórmas immaturas conservadas em alcool no frasco 207. Todo o lote typo pertence a nossa collecção.

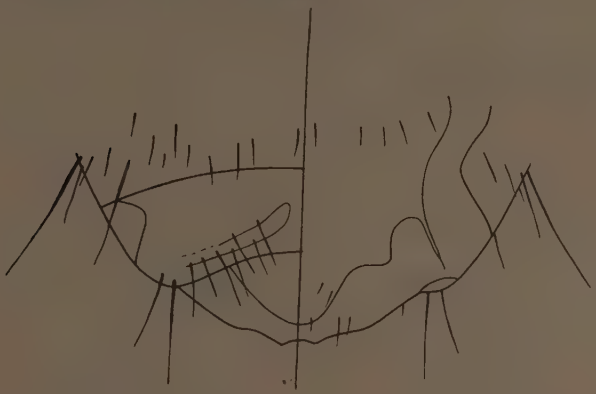


Fig. 203 — *Trichodectes dorcelaphi*, extremidade do abdomen do macho.

Fig. 204 — *Trichodectes dorcelaphi*, pseudo-penis.

Nota: — É possivel que esta especie seja identica a *Trichodectes parallelus* Osborn, deficientemente descripto e representado nos desenhos até então publicados e do qual não conseguimos obter exemplares para comparação. Comtudo, algumas pequenas differenças verificadas no confronto de nossos especimens com os dados existentes sobre a especie de Osborn e sobretudo, a diversidade de fauna dos logares de origem

nos induz a descrevel-a como nova, crentes que este modo de proceder apresenta maiores probabilidades de acerto e melhor se adapta aos interesses da nomenclatura zoologica.

### 21. **Trichodectes albimarginatus** n. sp.

HOSPEDADOR TYPO: — *Mazama americana*, de Pullus, Rio Aripuanã, Est. do Amazonas, Brasil.

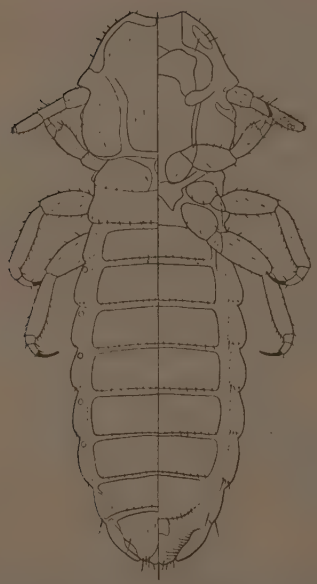
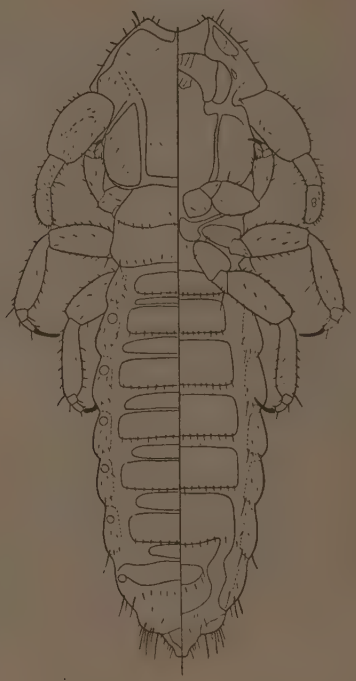


Fig. 205 — *Trichodectes albimarginatus*, femea.



Filg. 206 — *Trichodectes albimarginatus*, macho.

ESPECIMENS EXAMINADOS: — Os do lote typo, colhidos numa pelle de *Mazama americana*, determinada pelo Prof. A. de Miranda Ribeiro, colleccionada por Emil Stocle, da Commissão Rondon, na localidade acima referida e pertencente ao Museu Nacional do Rio de Janeiro.

Exemplares, numerosos e dos dois sexos, colhidos em duas pelles de *Mazama rondoni*, Mir. Rib., determinadas pelo Prof. A. de Miranda Ribeiro, ambas colleccionadas pela Commissão Rondon e pertencentes ao

Museu Nacional do Rio de Janeiro. Destas pelles, uma tem como origem Primor, no rio Madeira (Est. do Amazonas, Brasil) e a outra um ponto do Est. de Matto-Grosso (Brasil) situado entre os rios Jamary e Gy-Paraná.

Especimens encontrados em *Mazama nemorivagus*, de Jujuy, Rep. Argentina, pelo Dr. Salvador Mazza, constituindo um grande lote formado por exemplares dos dois sexos e numerosas fórmas jovens.

DESCRIPÇÃO: — Femea (fig. 205). Comprimento: 1.86 mm.

Cabeça (fig. 207) subhexagonal, tendo a porção pré-antennal em fórma de trapezio, com um bordo anterior escavado e dois lateraes rectos e diver-

Fig. 207 — *Trichodectes albimarginatus*, cabeça da femea.

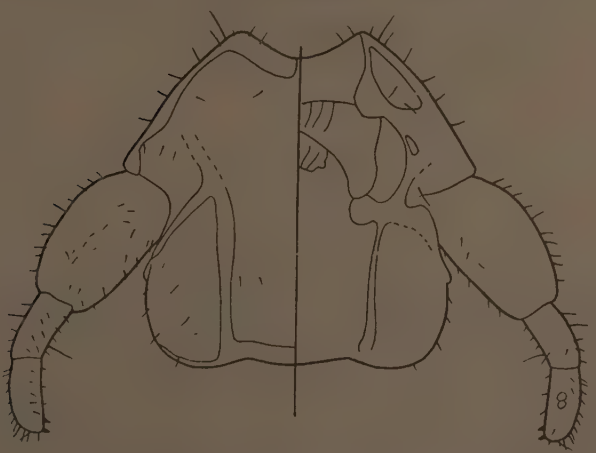


Fig. 208 — *Trichodectes albimarginatus*, cabeça do macho.

gentes, e a parte posterior limitada pelas margens temporaes, ligeiramente curvas, e a occipital recta. Na face superior ha faixas chitinisadas ao longo das margens da cabeça, sendo as da porção anterior e a que se encontra ao longo do bordo occipital, particularmente largas; duas outras, bem visiveis, reunem as extremidades da faixa occipital ás margens antero-lateraes. Na face inferior as zonas de maior espessamento do tegumento se acham distribuidas como foi representado na fig. 207. Em qualquer das faces, bem como nas margens da cabeça, o numero de pellos é muito pequeno e os poucos existentes são curtos. Temporas arredondadas e não salientes. Antennas, implantadas na metade posterior da cabeça, delgadas, longas e formadas de tres segmentos, cujos diametros são quasi iguaes; o primeiro, porém, é sensivelmente mais curto que os outros. Olhos pequenos.

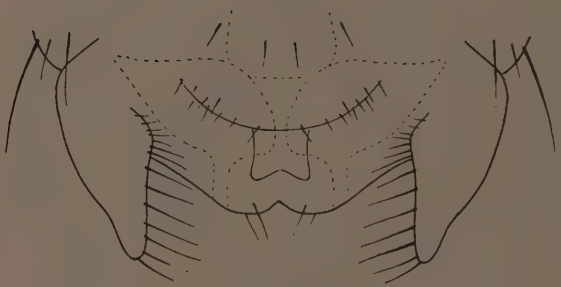


Fig. 209 — *Trichodectes albimarginatus*, genitalia da femea.

Fig. 210 — *Trichodectes albimarginatus*, genitalia do macho.

Thorax largo, apenas mais estreito que a cabeça, e curto, apparentemente formado de dois unicos segmentos. O anterior ou prothorax, subtrapezoidal, tem as margens lateraes divergentes e o posterior ou metathorax é subrectangular, tendo os bordos lateraes ligeiramente salientes. Na face superior ha, ao longo das margens posteriores dos segmentos thoracicos, alguns pellos curtos dispostos em fila; na inferior, deve-se notar uma placa espessada, cujas extremidades adelgaçadas se insinuam entre os quadrís anteriores e medianos. Os membros thoracicos teem a fórma corrente; apenas os dois ultimos pares não apresentam as cerdas rijas habitualmente encontradas nas extremidades

das tibias e que se oppõem aos tarsos como um pollegar. Os membros do primeiro par são mais curtos e mais fortes que os outros

Abdomen longo e estreito, com as margens parallelas em quasi toda sua extensão. Na face superior ha sete placas rectangulares, dispostas transversalmente, com as margens posteriores guarnecidas por uma fila de pequenos pellos, occupando quasi toda a superficie tergal dos segmentos typicos e uma oitava, junto á extremidade distal do abdomen, de fórma peculiar, com a margem anterior curva e a extremidade posterior bilobulada. Nesta ha pequenos pellos irregularmente implantados em sua superficie, uma cerda bem mais longa em cada margem lateral e um grupo de tres pellos, de comprimento médio, nas duas pontas terminaes. Placas esternaes, em tudo identicas as tergaes, em numero de seis. Pleuritos totalmente despigmentados, não se notando ahi o menor espessamento do tegumento; comtudo seus limites podem ser observados, embora difficilmente. Nas margens posteriores ha alguns pellos estendidos em fila regular. Junto ás margens abdominaes se encontram seis pares de estigmas respiratorios, com abertura voltada para cima.

A genitalia (fig. 209) é formada por duas grandes gonapophyses, com a margem interna guarnecida de cerdas longas e por uma placa mediana, com as duas dimensões iguaes, tendo a borda posterior reentrante, em angulo obtuso na linha mediana. Esta placa está em relação, por sua margem anterior, com uma linha curva, ao longo da qual ha alguns pellos pequenos. Além destas formações, deve-se notar duas grandes areas pigmentadas, indicadas na fig. 209 por linhas interrompidas.

Macho (fig. 206). Comprimento: 1.73 mm.

Nos individuos deste sexo, as antennas são consideravelmente maiores e mais robustas, devido, sobretudo, ao grande desenvolvimento do primeiro articulo; o segundo e o terceiro segmentos apresentam differenças sensiveis quando comparados aos da femea, como se póde vêr na fig. 208. A fossa de implantação das antennas é maior, dado o diametro do articulo proximal das mesmas, o que implica em alteração da fórma da cabeça.

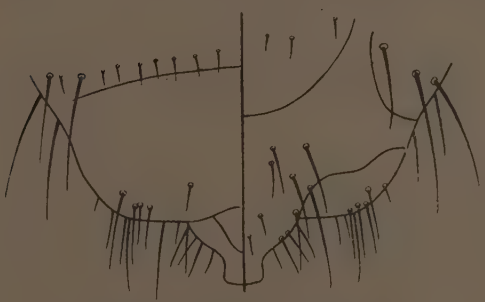


Fig. 211 — *Trichodectes albimarginatus*, extremidade do abdomen do macho.

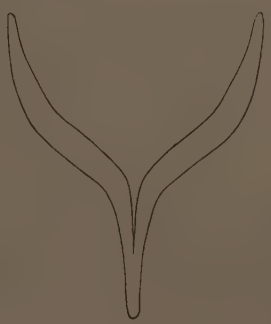


Fig. 212 — *Trichodectes albimarginatus*, pseudo-penis.

Placas tergaes divididas transversalmente em duas outras; uma anterior estreita e outra posterior larga. Seu numero fica, assim, elevado á treze. Na face ventral, os esternitos dos ultimos segmentos se reunem, do que resulta uma grande placa de aspecto proprio.

A extremidade posterior do abdomen (fig. 211) apresenta na linha mediana pronunciada saliencia, tendo de cada lado numerosos pellos longos; sua conformação é de importancia na caracterisação da especie.

Genitalia (fig. 210) formada de placa basal comprida, com margens lateraes espessadas, em cujas extremidades distaes se encontram pequenas peças alongadas e orientadas de traz para deante e de dentro para fóra, de pseudopenis de fórma caracteristica (fig. 212) e duma placa endomeral com dois grandes ramos voltados para traz

TYPO: — Lamina 1674, com uma femea.

ALLOTYPO: — Lamina 1676, com um macho.

PARATYPOS: — Laminas 1671, 1672, 1673 e 1675 com 4 femeas e 1677 e 1678 com 2 machos. Fórmas jovens conservadas em alcool no frasco 205. Todo o lote typo pertence á nossa collecção.

NOTA: — Não nós é possivel afirmar, com absoluta convicção, que esta especie seja distincta de *Trichodectes lipeuroides* Mégnin, em vista da deficiencia dos dados contidos na litteratura e por não termos conseguido exemplares para comparação. Descrevemol-a como nova, pelos motivos expostos ao tratar da outra especie encontrada nos veados brasileiros

## 22. **Trichodectes cordiceps** (Mjöberg)

1910 — *Eutrichophilus cordiceps,* Mjöberg, Arkiv för Zoologi, vol. 6, n.º 13, pags 75-77, fig. 46, pl. 4, figs. 5-6.

1913 — *Eutrichophilus cordiceps,* Stobbe, Deutsche Entomologische Zeitschrift, pags. 566, fig. 4.

1916 — *Eutrichophilus cordiceps,* Harrison, Parasitology, vol. 9, pag. 74.

HOSPEDADOR TYPO: — *Cercolabes prehensilis*, da Colonia de Santa Cruz, Rio Grande do Sul, Brasil.

HOSPEDADORES OUTROS: — Esta especie, tambem foi encontrada por Stobbe em *Sphingurus villosus*.

ESPECIMENS EXAMINADOS: — Grande numero de exemplares, de ambos os sexos, colhidos repetidamente em *Coendu villosus*, nos Estados de São Paulo, Rio de Janeiro e no Dist. Federal (Brasil).

DESCRIPÇÃO: — Femea (fig. 213). Comprimento: 1.93 mm.

Cabeça (fig. 215) approximadamente tão longa quanto larga, com a porção pré-antennal em trapezio, no qual o bordo anterior, parallelo ao posterior, é consideravelmente menor que os demais. Temporas fortemente projectadas para traz, dando á cabeça a fórma convencional dum coração. Junto as margens e em ambas as faces se encontram raros e pequenos pellos. As faixas

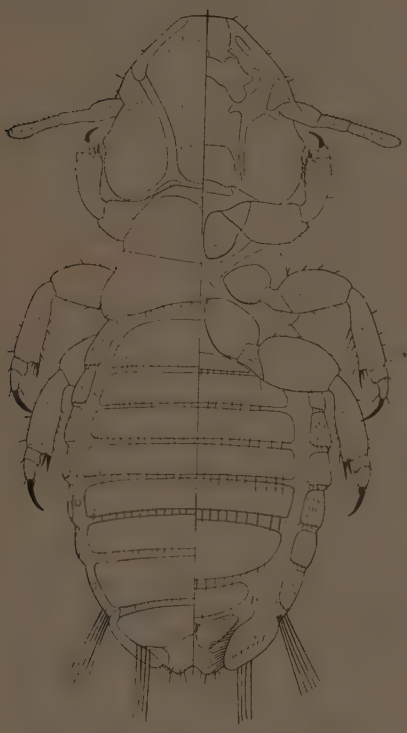


Fig. 213 — *Trichodectes cordiceps*, femea.

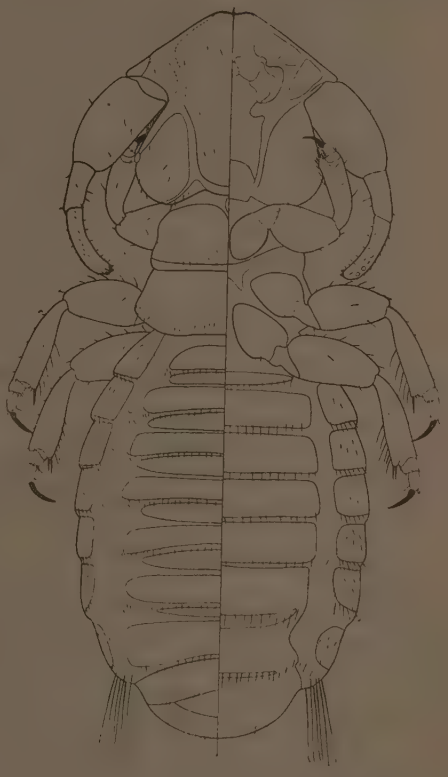


Fig. 214 — *Trichodectes cordiceps*, macho.

resultantes do espessamento do tegumento são escuras e bem marcadas, principalmente as que, na face superior, se encontram ao longo da margem antero-externa da cabeça e as que atravessam, em diagonal, a face superior, reunindo o bordo occipital a extremidade posterior da faixa antennal. As da face inferior são mais largas e mais irregulares.

As antennas se implantam em seios pequenos, situados em meio do comprimento da cabeça. O primeiro articulo é o mais grosso e o terceiro, da mesma

grossura do segundo, é o mais longo: os dois primeiros são approximadamente do mesmo comprimento.

Olhos salientes e grandes.

Thorax subtrapezoidal, formado apparentemente por dois segmentos, superpostos, da mesma fórma, sendo o anterior mais comprido e mais estreito que o posterior. A face superior do thorax é mais curta que a cabeça; sua largura maxima é, porém, ligeiramente maior. Na face tergal do prothorax e no bordo posterior do metathorax se encontram pequenos pellos, os ultimos estendidos em fila. Na face inferior, entre os quadris dos membros do primeiro e segundo par, ha duas faixas chitinisadas que se dirigem de deante para traz e cujas extremidades internas, dilatadas e subtriangulares, se encontram na linha mediana.

Abdomen curto e largo, oval, fendo de comprimento vez e meia sua largura maxima. Todos os segmentos typicos teem placas tergaes, pleuraes e esternaes bem chitinisadas e pigmentadas, em cujas margens posteriores ha uma

Fig. 215 — *Trichodectes cordiceps*, cabeça da femea.

fila regular de pequenos pellos. Os pleuritos apresentam, ainda, alguns pellos irregularmente dispostos. Em cada uma das margens lateraes, junto a extremidade posterior do abdomen, se encontram dois grupos de cerdas longas, que se inserem nos angulos posteriores do setimo e oitavo segmentos abdominaes.

Seis pares de estigmas abdominaes presentes.

Genitalia (fig. 216) formada de gonopodos grandes, salientes, e com os bordos internos guarnecidos de numerosas cerdas.

Macho (fig. 214). Comprimento: 2.16 mm.

Distingue-se da femea pela fórma da cabeça, onde os seios antennaes são muito mais largos e profundos, e, tambem, pela fórma das antennas, fortemente encurvadas. Nestas, o primeiro segmento adquire desenvolvimento consideravel, tendo de comprimento quasi metade do comprimento total das antennas e de diametro tres vezes mais que o segmento antennal correspondente da femea. O segundo articulo é o menor, embora ligeiramente mais grosso que o terceiro. Este ultimo tem na extremidade distal duas fossetas sensoriaes e dois espinhos voltados para dentro.

Em quasi todos os segmentos abdominaes as placas tergaes são duplas, sendo a anterior menor que a posterior. Nas margens do abdomen ha, unicamente, um grupo de cerdas longas para cada lado.

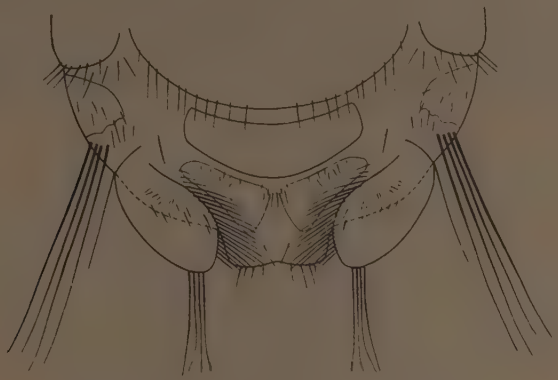


Fig. 216 — *Trichodectes cordiceps*, genitalia da femea.

Fig. 217 — *Trichodectes cordiceps*, genitalia do macho.

Genitalia (fig. 217) formada duma grande placa basal, mais larga na porção anterior do que na posterior e com os bordos lateraes rectos e convergentes. Os parameros são longos e teem a fórma duma lamina de escalpello.

### 23. **Trichodectes cercolabes** (Mjöberg)

1910 — *Eutrichophilus cercolabes*, Mjöberg, Arkiv för Zoologi, vol. 6, n.º 13, pags. 72-75, pl. 4, figs. 7-8.
1913 — *Eutrichophilus cercolabes*, Stobbe, Deutsche Entomologische Zeitschrift, pags. 565-566, figs. 2-3.
1916 — *Eutrichophilus cercolabes*, Harrison, Parasitology, vol. 9, pag. 73.

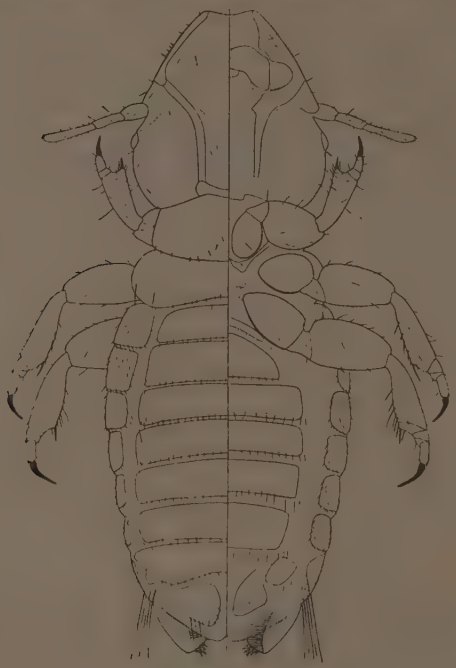


Fig. 218 — *Trichodectes cercolabes*, femea.

Hospedador typo: — *Cercolabes prehensilis*, da Colonia de Santa Cruz, Rio Grande do Sul, Brasil.

Hospedadores outros: — Esta especie foi encontrada por Stobbe em *Sphingurus villosus*.

Especimens examinados: — Grande numero de exemplares, de ambos os sexos, colhidos por diversas vezes em *Coendu villosus*, nos Estados de São Paulo, Rio de Janeiro e no Dist. Federal (Brasil).

Descripção: — Femea (fig. 218). Comprimento: 2.19 mm.

Cabeça (fig. 220) approximadamente tão larga quanto longa. A porção pré-antennal, em fórma de trapezio, tem as margens lateraes divergentes quasi

rectas e a anterior, de todas a menor, ligeiramente escavada. Temporas pouco salientes, tendo o vertice do angulo temporal voltado para traz. Bordo occipital pequeno. A fórma geral da cabeça é hexagonal, com uma margem anterior, duas antero-lateraes, duas postero-lateraes e uma posterior. Em ambas as faces, como junto ás suas margens, se encontram raros e pequenos pellos, que carecem de valor na identificação da especie. Na face superior ha duas faixas fortemente chitinisadas, escuras, ligando a margem occipital ás antero-

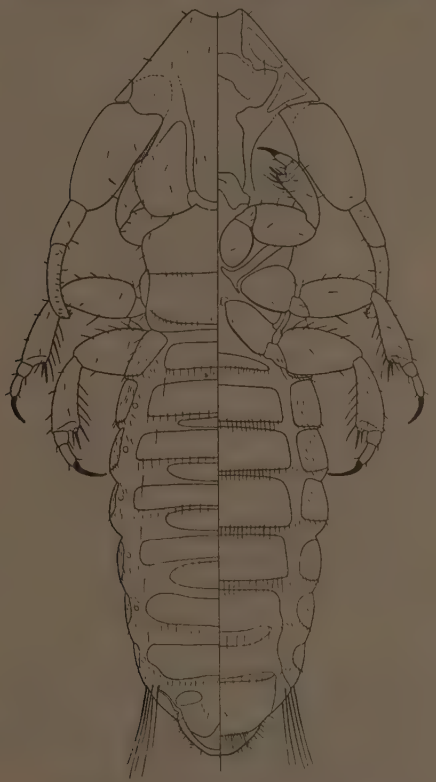


Fig. 219 — *Trichodectes cercolabes*, macho.

lateraes, ao longo das quaes correm formações da mesma natureza. Na face inferior a disposição das faixas é semelhante, apenas estas são menos regulares que as correspondentes da face superior.

As antennas se implantam em pequenas fossas antennaes, situadas em meio do comprimento da cabeça. São formadas de tres articulos, dos quaes o primeiro é o mais curto e mais grosso e o terceiro o mais longo. O comprimento deste ultimo é quasi igual ao dos dois outros reunidos.

Thorax, visto de cima, apparentemente formado de dois segmentos. O anterior é subrectangular, mais longo e mais estreito que o posterior. Este ultimo tem as margens lateraes salientes e arredondadas e a posterior ligeiramente concava; sua largura é apenas superior a da cabeça.

Membros thoracicos sem nada de particular.

Abdomen de fórma oval, embora não muito pronunciada, tendo de comprimento vez e meia sua largura maxima. Os segmentos typicos apresentam placas tergaes, esternaes e pleuraes fortemente chitinisadas, pigmentadas e bem delimitadas. Os tergitos e esternitos teem pellos sómente ao longo das margens posteriores, onde estes se dispõem em linha regular. Nos pleuritos, os pellos se encontram esparsos em toda a superficie; comtudo póde-se observar disposição mais regular nos que bordam as margens posteriores. Nas margens do abdomen, junto ao ponto de inserção dos gonopodos, ha, de cada lado, um grupo formado por cerca de cinco cerdas longas. Além dessas, encontram-

Fig. 220 — *Trichodectes cercolabes*, cabeça da femea.

se seis outras grupadas tres a tres, nas margens posteriores do ultimo tergito, o qual fórma duas placas na extremidade posterior do abdomen por ser interrompido na linha mediana.

Genitalia (fig. 221) formada de gonopodos grandes, salientes, e com grande numero de cerdas voltadas para dentro.

Macho (fig. 219). Comprimento: 2.47 mm.

Distingue-se da femea pela fórma da cabeça, onde os seios antennaes apresentam grande desenvolvimento. As antennas são consideravelmente maiores. O primeiro articulo é tão longo quanto os dois outros reunidos e seu comprimento é approximadamente igual ao comprimento total das antennas da femea, sua largura é tres vezes maior que a observada no primeiro segmento desta. O terceiro articulo é mais longo e ligeiramente mais estreito que o segundo, e tem na margem interna, junto á extremidade livre, dois pequenos espinhos.

Abdomen mais fino e longo, com a extremidade posterior saliente. Quasi todos os tergitos apresentam duas placas bem chitinisadas, sendo a anterior menor que a posterior.

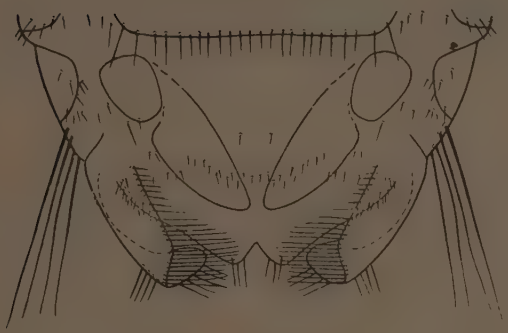


Fig. 221 — *Trichodectes cercolabes*, genitalia da femea.

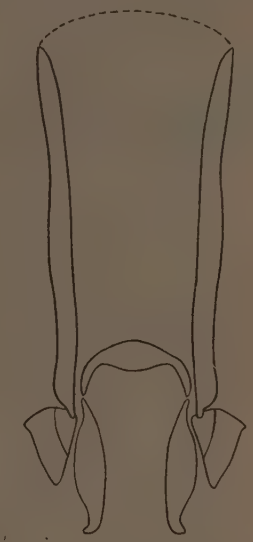


Fig. 222 — *Trichodectes cercolabes*, genitalia do macho.

A genitalia (fig. 222) é formada, principalmente, duma grande placa basal de margens lateraes parallelas e fortemente espessadas e de pequenos parameros, fusiformes, com a extremidade distal ligeiramente encurvada para fóra.

## 24. **Trichodectes minor** (Mjöberg)

1910 — *Eutrichophilus minor*, Mjöberg, Arkiv för Zoologi, vol. 6, n.º 13, pags. 77-79, figs. 44, 47, 48, 112, pl. 4, fig. 3.
1913 — *Trichodectes setosus*, Neumann, Archives de Parasitologie, vol. 15, pags. 620-623, figs. 11-12 (*nec* Giebel)
1913 — *Eutrichophilus minor*, Stobbe, Deutsche Entomologische Zeitschrift, pags. 564-565.
1916 — *Eutrichophilus minor*, Harrison, Parasitology, vol. 9, pag. 74.

HOSPEDADOR TYPO: *Cercolabes prehensilis*, da Colonia de Santa Cruz, Rio Grande do Sul, Brasil.

HOSPEDADORES OUTROS: Neumann assignalou esta especie, como se fôra *T. setosus* Giebel, em *Cercolabes villosus*.

Especimens examinados: — Grande numero de exemplares de ambos os sexos, encontrados repetidamente em *Coendu villosus*, capturados nos Estados de São Paulo, Rio de Janeiro e Dist. Federal (Brasil).

Descripção: — Femea (fig. 223). Comprimento: 1.83 mm.

Cabeça (fig. 225) com as duas dimensões approximadamente iguaes, tendo a fórma geral dum coração. A porção pré-antennal é trapeziforme, com as margens lateraes divergentes e o bordo anterior menor que o posterior. Temporas fortemente salientes e voltadas para traz. Poucos pellos ha na cabeça; ape-

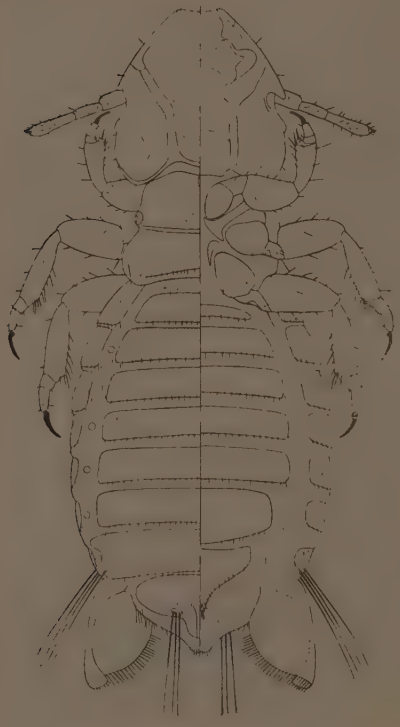


Fig. 223 — *Trichodectes minor*, femea.

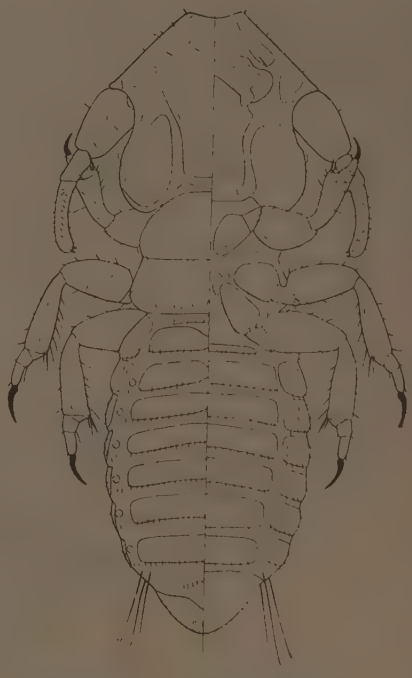


Fig. 224 — *Trichodectes minor*, macho.

nas junto as margens e na face superior se encontram algumas cerdas pequenas e sem maior interesse. As faixas existentes ao longo do bordo occipital, das margens antero-lateraes e as que percorrem a face superior em diagonal são fortemente chitinisadas e bem pigmentadas.

As antennas, formadas de tres segmentos, se implantam em meio do comprimento da cabeça. O primeiro articulo é o mais grosso e o terceiro o mais longo; o diametro dos dois ultimos é approximadamente o mesmo.

Olhos grandes e salientes.

Thorax mais curto que a cabeça. Prothorax mais estreito que o metathorax, com as margens lateraes rectas e ligeiramente divergentes. Metathorax com as extremidades lateraes salientes, curvas, e margem posterior concava. Na face superior do thorax ha seis ou oito pequenos pellos no prothorax e uma fila regular ao longo da borda posterior do metathorax, nas extremidades da qual se encontra uma cerda longa. Na face inferior, inteiramente desprovida de pellos, ha uma faixa fortemente chitinisada entre os quadrís dos membros do primeiro e segundo par e uma pequena placa da mesma natureza junto aos quadrís dos membros posteriores. O prothorax tem um par de estigmas respiratorios.

Os membros anteriores são pequenos; os médios e posteriores longos e subiguaes.

Abdomen grande e largo, tendo, em todos os segmentos typicos, placas tergaes, esternaes e pleuraes fortemente chitinisadas. Os tergitos e esternitos apresentam ao longo da margem posterior uma fila regular de pequenos pellos. Os pleuritos teem toda a superficie guarnecida de pellos semelhantes. No ab-

Fig. 225 — *Trichodectes minor*, cabeça da femea.

domen se encontra, de cada lado da linha mediana, dois grupos formados por tres ou quatro cerdas longas: um ao nivel do ultimo estigma respiratorio e outro na placa tergal do ultimo segmento.

Seis pares de estigmas respiratorios presentes.

Genitalia (fig. 226) com dois enormes gonopodos, salientes na extremidade posterior do abdomen e bordados, na margem interna, com grande numero de cerdas. A placa genital tem a margem posterior guarnecida de pellos pequenos, mais numerosos na linha mediana, onde formam um agrupamento caracteristico.

Macho (fig. 224). Comprimento: 1.65 mm.

Muito menor que a femea, o que resulta, principalmente, duma accentuada diminuição de volume do abdomen. A fórma da cabeça e das antennas

é bastante differente, sendo o primeiro articulo antennal consideravelmente maior que os demais e o terceiro, em cuja extremidade ha dois espinhos, muito mais longo que o segundo. O abdomen é mais oval.

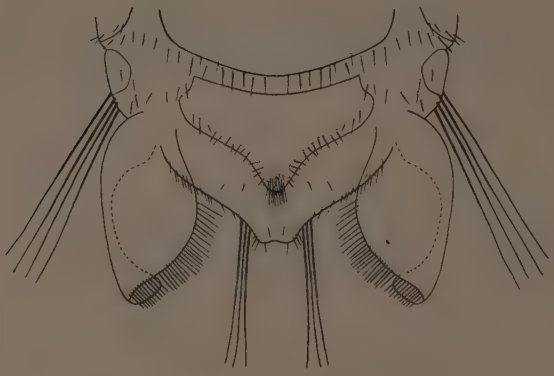


Fig. 226 — *Trichodectes minor*, genitalia da femea.

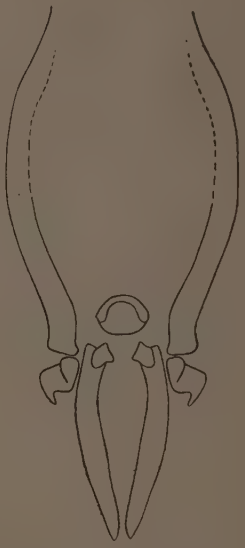


Fig. 227 — *Trichodectes minor*, genitalia do macho.

Genitalia (fig. 227) formada duma placa tasal de fórma muito caracteristica, com as margens lateraes convexas, e de dois parameros longos, encurvados para dentro.

Nota:—Mjöberg, em 1910, pela primeira vez se occupou dos mallophagos de nosso ouriço-caixeiro, descrevendo tres especies novas. Annos depois, isto é, em 1913, Neumann voltou ao assumpto, estudando material abundante, constituido por exemplares de ambos os sexos e fórmas immaturas, que lhe fôra proporcionado por Göldi e Trouessart. O resultado destas pesquizas foi verdadeiramente surprehendente, tendo o autor concluido pela identidade das tres especies de Mjöberg com o *Trichodectes setosus* de Giebel, descripto de hospedador norte-americano, porque diversos coendideos apresentam, do Mexico ao Brasil, uma mesma especie de carrapato! Entretanto, é quasi certo que as especies, ou pelo menos duas das especies de Mjöberg estivessem representadas no material de Neumann, por que as encontramos sempre nos ouriços que examinamos. Este autor porém não admittia como possivel a presença de va-

rias especies dum unico genero sobre o mesmo hospedador; prova-o o seguinte trecho: « C'est, je crois, la première fois qu'un auteur croit trouver trois espèces voisines du même genre de Mallophages sur le même hôte. Je ne puis m'empecher de les considérer comme représentant divers aspects de *Trichodectes setosus* ». Seria licito suppôr ser convicção, tão firme, resultado duma falta de opportunidade na verificação de factos desta natureza, presentemente tão bem estabelecidos, se não tivessemos examinado uma lamina de sua collecção, emprestada pelo Prof. A. Martin, na qual encontramos quatro exemplares de tres especies absolutamente distinctas, consideradas identicas por terem sido encontradas num *Hyrax* do Congo.

Finalmente, ainda em 1913, Stobbe revendo o material typico, confirmou a existencia das tres especies assignaladas no ouriço-caixeiro.

Ao retomar o estudo destes parasitos, para os quaes um novo genero — *Eutrichophilus* — foi proposto, verificamos immediatamente a presença das especies de Mjöberg, caracterisadas de modo inconfundivel não só pelas genitalias dos machos como pelas regiões genitaes das femeas. Dois pontos, entretanto, necessitavam ser investigados para confirmação cabal do trabalho deste autor.

Primeiramente deveriamos apurar se femeas e machos encontrados haviam sido devidamente acasalados, porquanto vivendo todas de mistura no mesmo hospedador e pertencendo ao mesmo genero, um erro seria de esperar, aliás justificavel em vista da ausencia de caracteres favoraveis á solução dum problema desta ordem. Com este fim examinamos grande numero de ouriços, na esperança de encontrar infestações puras ou, pelo menos, a ausencia completa duma das especies, mas nossas tentativas neste sentido fracassaram totalmente, porque em todos os animaes examinados as tres especies existiam de mistura. Verificamos, comtudo, sem que tivessemos feito uma estatistica, a grande predominancia de *T. cordiceps* e a pequena porcentagem de *T. cercolabes*; a terceira especie — *T. minor* — era sempre mais rara que a primeira e muito mais commum que a segunda. É de crêr que Mjöberg tenha se baseado em observação identica. Não satisfeitos, procuramos outra prova que, não comportando duvidas, nos permittisse resolver a questão de modo absolutamente seguro. Nosso desejo foi conseguido pelo exame de grande numero de individuos capturados em copula.

Os ouriços se apresentam, via de regra, intensamente infestados, devido, em parte, á difficuldade de se livrarem dos parasitos occasionada pelos espinhos de sua pelle. Assim, facil se torna o encontro de especimens nestas condições e nós obtivemos em poucos dias, dum unico

ouriço, 27 femeas e 27 machos de *T. cordiceps*, 24 femeas e 24 machos de *T. minor*. É necessario, porém, que a procura seja feita em animal vivo. A constancia verificada entre femeas e machos, confirma plenamente o acasalamento feito por Mjöberg. Receiavamos que a copula pudesse se dar indistinctamente, embora resultasse esteril. Tal hypothese parece eliminada, porquanto nunca encontramos individuos de especies differentes em copula ou tentativa de copula.

Estas pesquizas nos levaram á observar a copula nos diversos *Trichodectideos* do ouriço-caixeiro, cortando, para isto, os pellos em que se encontravam os parasitos, collocando-os entre dois vidros de relogio e transportando-os ao microscopio binocular, onde o acto póde ser acompanhado em todas as suas phases e apreciado convenientemente. O macho se insinua por baixo da femea, prendendo-a com as antennas pelo estrangulamento existente entre o thorax e abdomen. A partir deste momento, ambos permanecem orientados no mesmo sentido, a face inferior da femea repousando sobre a superficie tergal do macho, e deixam de caminhar, só o fazendo excepcionalmente e quando provocados. Este modo de fixação explica o extraordinario desenvolvimento das antennas do macho, caracter sexual secundario notavel, bem como a utilidade dos espinhos do ultimo segmento antennal para impedir o escorregamento na superficie lisa do tegumento. Isto feito, o macho encosta a extremidade posterior do abdomen na região genital da femea, que começa a attritar compassadamente. Os machos de grandes dimensões (*T. cordiceps*) são obrigados a encurvar fortemente a segunda metade do abdomen, voltando-a para cima e para deante, emquanto que os menores (*T. minor*) levantam simplesmente a extremidade distal do mesmo. No fim de algum tempo, nota-se um certo movimento no ultimo segmento abdominal da femea, movimento este que se accentua a medida que o macho insiste, até se tornar bem visivel e que se traduz pela abertura rhythmada da vulva, provocada mais pelo levantamento do segmento terminal do que pelo abaixamento das gonapophyses. Neste periodo um liquido incolor, transparente e viscoso humedece as partes em contacto. Num dado momento, quando os movimentos de abertura da vulva attingem maior amplitude, o macho encosta sua abertura genital e introduz o orgão copulador, formado principalmente pela vesicula-penis, de fórma irregular e paredes incolores, transparentes e revestidas de pequenos espinhos chitinosos. Os parameros ficam collados á vesicula, cujas paredes sustentam e reforçam; quando a introducção do orgão copulador é completa, tambem elles são introduzidos na vulva. A copula propriamente dita, dura cerca de cinco minutos, findo os quaes o macho recolhe ao

abdomen o orgão copulador, mas o periodo que a precede é muito mais longo e nos foi dado observal-o durante duas horas.

Após a copula, macho e femea permanecem agarrados. Os movimentos de abertura da vulva continuam, mas vão decrescendo até desapparecerem por completo. Nos primeiros momentos póde-se ver a cavidade genital cheia de liquido incolor e transparente, provavelmente sperma, e perceber movimentos do fundo da cavidade, tendentes á approximal-a de sua abertura. O macho retoma immediatamente os movimentos da extremidade do abdomen, attritando-a contra a região genital da femea, até consumar uma segunda copula. Nesta, porém, a introducção do orgão copulador não é integral e só a extremidade da vesicula penetra na vulva; por transparencia veem-se os parameros e a placa basal dentro do abdomen movimentando-se como para expellir, em vão, a vesicula-penis atravez o orificio genital. Em nenhuma das femeas capturadas em copula observamos a presença de ovo.

Quanto a possivel identidade de uma ou mais das especies de Mjöberg com as anterior ou posteriormente descriptas, nada podemos dizer de definitivo, por não nos ter sido dado trabalhar com o material norte-americano indispensavel. Parece fóra de duvida que os Coendideos deste continente são, tambem, parasitados ao mesmo tempo por mais de uma especie e emquanto estas não forem rigorosamente acasaladas e descriptas, nada se poderá afirmar com segurança. Algumas considerações sobre os dados existentes na litteratura relativa á estes parasitos, se tornam necessarias para demonstrar a impossibilidade allegada.

A especie mais antiga — *T. setosus* — foi descripta em 1861 por Giebel, de material que Nitzsch havia recebido de Hamburgo em 1832, colhido num Coendideo norte-americano, presumidamente *Erethison dorsatum*. Não obstante, este hospedador passou a ser considerado, unanimemente, hospedador-typo de *T. setosus*, do qual Giebel publicou duas descripções, sem desenhos, em que se refere aos dois sexos. Entretanto, segundo Neumann, é provavel que Giebel não tivesse examinado os machos, sendo os individuos considerados como tal simples fórmas immaturas. A descripção da femea não permitte identifical-a.

Mais tarde, em 1882, Taschemberg, servindo-se dos typos de Giebel, redescreveu e desenhou a femea, não tendo encontrado os machos. Infelizmente, este estudo não permitte, tambem, identificar a especie, pois que os caracteres ahi registrados são communs ás outras femeas do mesmo grupo.

As primeiras informações de maior valor sobre o *T. setosus* datam de 1896, quando Osborn desenhou a femea e a extremidade posterior do macho, de accôrdo com especimens colhidos em *Erethison dor-*

*satum*, ou melhor de 1903, anno em que Morse publicou novos desenhos do material de Osborn. Segundo estes trabalhos, o macho de *T. setosus* muito se assemelha ao de *T. minor*, não só pela fórma do abdomen e pela relação entre o comprimento das diversas partes do corpo, como pelo aspecto geral do apparelho copulador, mas delle se differencia nitidamente pelo tamanho e fórma das antennas. A femea, tambem, se distingue facilmente da de *T. minor*, dada a diversidade verificada nas respectivas genitalias. Uma objecção, entretanto, deve ser formulada: macho e femea estudados por Osborn e Morse pertencerão á mesma especie? É este um ponto capital á ser elucidado.

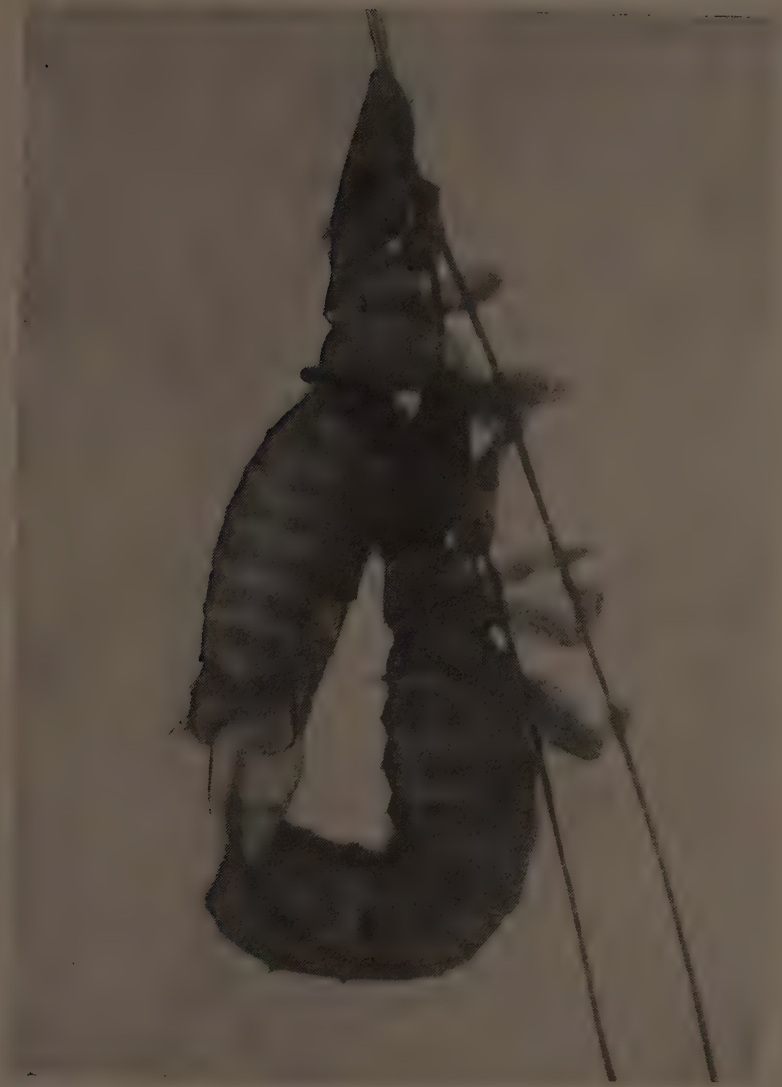
Em 1913 Stobbe voltou a se occupar do *T. setosus*, usando de especimens do Museu de Berlim, colhidos em *Urson* sp. e *Erethison* sp. e os dados publicados estão perfeitamente de accôrdo com os de Osborn e Morse. Finalmente, em 1916, Cummings apresentou um desenho da genitalia de *T. setosus*, inteiramente em divergencia com as figuras de Osborn e Morse. Para que esta genitalia pudesse ser attribuida a *T. setosus* seria preciso a prova de que os individuos descriptos por estes autores não pertencem a mesma especie e que o referido desenho corresponde á genitalia do macho da femea estudada por Osborn e Morse. Ainda assim, restaria verificar se a genitalia desenhada não é a de *T. coëndu*, descripto por Stobbe em 1913, da qual não foi dada descripção ou desenho. É verdade que Cummings fez um estudo comparativo entre a supposta genitalia de *T. setosus* e a de *T. coëndu*, mas suspeitamos que os especimens por elle determinados como pertencentes a esta ultima especie fossem, na realidade, machos de *T. cordiceps*. O esclarecimento destas duvidas poderá conduzir ao reconhecimento de mais uma especie, representada por um dos machos descriptos por Osborn, Morse e Cummings.

O *T. mexicanus* permanecerá provavelmente irreconhecivel, pois o desenho de Taschemberg, que teve a sua disposição os typos de Rudow, representa com certeza uma fórma immatura, não só pela fórma e tamanho do abdomen como, e principalmente, pelos caracteres das antennas que excluem a possibilidade de se tratar dum macho de *T. minor*. Esta especie só poderia ser tomada em consideração se se provasse que o *Cercolabes mexicanus* é parasitado por uma unica especie de *Trichodectes*, caso em que esta deveria ser attribuida á Rudow. Nesta hypothese, que não admittimos como provavel, o *T. coëndu* seria considerado synonymo de *T. mexicanus*.

A especie de Stobbe (*T. coëndu*) poderá ainda ser identificada á uma das especies de Mjöberg, mas não acreditamos que isto succeda. Apezar de sua descripção não satisfazer as necessidades actuaes, tudo faz crêr que seja uma especie valida.

Estampa 1

*Trichodectes cordiceps* — Exemplares em copula.



J. Pinto, photomicr.

Werneck: Mallophagos de mammiferos sul-americanos.

# O grupo *pullorum-gallinarum* em provas bacteriologicas comparativas *

por

Genesio Pacheco
do Instituto Oswaldo Cruz

e

Celso Rodrigues
do Instituto Biologico de São Paulo

(Com 6 estampas e 2 graphicos)

O agente etiologico do typho aviario foi descripto por Klein em 1889 sob o nome *Bacterium gallinarum*, numa descripção incompleta de que resultou ser o germen redescripto em 1895 por Moore, sob o nome de *Bacterium sanguinarum*, e por Pfeiler em 1917, como *Bacterium typhi gallinarum alcalifaciens*. Reverificações posteriores demonstraram que estas tres denominações se referiam á mesma bacteria.

Em relação á diarrhéa branca, a attenção dos pesquizadores foi attrahida para ella em fins do seculo passado, porque affectou seriamente as criações industriaes de aves, incipientes nos Estados Unidos naquella epocha. Em consequencia dos trabalhos dos pesquizadores americanos, com especialidade Rettger e collaboradores, foi determinado como agente causador da doença, o *Bacterium pullorum*, descripto por Rettger & Harvey. Este germen e a infecção causada por elle, foram objecto de minuciosos estudos, realisados principalmente na Estação Experimental de Storrs, U. S. A., entre 1900 e 1914. Graças a trabalhos continuados puderam ser resolvidas questões essenciaes da pathogenia da diarrhéa branca: a capacidade infectante do germen tambem para a ave adulta, o papel desta como reservatorio do virus, em consequencia de infecção chronica do ovario, levando a contaminação do conteúdo do ovo antes de sua postura e nascimento do pinto já contaminado e, finalmente, a existencia de dois typos culturalmente differentes de *pullorum*, um gazogeno e outro não gazogeno. Com o progresso dos conhecimentos bacteriologicos sobre este germen, assim como sobre o do typho aviario, a identidade antigenica de ambos, e a semelhança bacteriologica entre o typo não gazogeno do *pullorum* e o *gallinarum*, levaram numerosos investigadores a admittir serem todos elles typos differentes de uma mesma especie. Apoiavam-se, para isto, em verificações sobre a possibilidade de se transformar um typo *pullorum* gazogeno em outro não gazogeno,

Recebido para publicação a 7 de Abril de 1936 e dado a publicidade em Setembro de 1936.

e vice-versa, em irregularidades na fermentação da maltose, utilizada para differenciação dos dois germens *pullorum* e *gallinarum*, e na possibilidade de se infectarem com o *pullorum* gallinhas e pintos. Esta tendencia assumiu caracter definitivo quando, na Reunião do Congresso Internacional de Veterinaria de Londres, em 1930, as opiniões foram favoraveis á reunião dos typos descriptos como causa da diarrhéa dos pintos e do typho aviario em uma especie unica.

Tendo isolado em 1930, de pinto Leghorn de uma Granja de São Paulo, Brasil, uma amostra do typo *pullorum* não gazogeno, occorreu-nos estudal-a durante um periodo largo de tempo, afim de surprehender quaesquer modificações nas suas propriedades, conjunctamente a numerosas amostras dos typos *pullorum* e *gallinarum*, gazogenas e não gazogenas, obtidas de varios pesquizadores europeus e americanos. Consistiram essencialmente nossos estudos em examinar periodicamente, durante tres annos, os caracteres culturaes de cada amostra.

Dois pontos principaes prendiam nossa attenção desde o inicio: a possibilidade de transformação do typo gazogeno do *pullorum* em outro não gazogeno, ou vice-versa, e a possibilidade de uma acção irregular sobre a maltose. Ora, sendo estes dois elementos essenciaes na caracterização dos tres differentes typos até então reconhecidos, seria em torno de sua fixidez ou variabilidade, pelo menos do ponto de vista bacteriologico, que se poderia acreditar ou não na individualidade das especies ou typos do grupo *pullorum-gallinarum*.

## MATERIAL DE ESTUDO

Reunimos 37 amostras, das quaes 3 foram isoladas no Brasil, e as restantes nos Estados Unidos ou na Europa. Eis sua relação, acompanhadas da sua proveniencia e precedidas da denominação que lhes demos:

*a*) Recebida do Prof. de Blieck do « Institut voor parasitairen Infektieziete da Ryku Universiteit », de Utreck, recebida em Março de 1930, rotulada:

*G 36* — *Bacterium gallinarum* Klein, original;

*b*) Recebidas do Prof. Miessner, de Hannover, em Abril de 1930, rotuladas:

*P 28* — Stamm H 1.009 (gaz +)

G *28* — Stamm 485 (gaz —)

*P 26* — Stamm G 124 (gaz —)

*P 29* — Stamm Kuecken 493 (gaz —);

*c*) Recebidas do Reichsgesundheitsamt de Berlim, em Março de 1930, rotuladas:

*P 24* — Stamm Ovar IV, de Beller,

*P 25* — Stamm Kuecken IV, de Beller

*P 27* — Stamm Ovar Ausgang, de Beller;

*d*) Recebidas do Prof. Reese, do Rijksseruminrichtung de Rotterdam, no segundo semestre de 1930 e rotuladas:

*P 21* — *Pullorum* Flessmann

*P 14* — *Pullorum* Adelshof

*P 10* — *Pullorum* Schiedam

*P 16* — *Pullorum* Voorst

*P 7* — *Pullorum* Broos

*P 20* — *Pullorum* Thyn

*P 13* — *Pullorum* Keyser

*e*) Recebidas do Prof. Goodner, do Agricultural Experiment Station de Rhode Island State College, U. S. A., cujas indicações são extrahidas, a conselho seu, do Journal of Bact., v. 13, p. 130 e rotuladas:

*P 4* — *Pullorum* 12, enviada por Gage do Mass. Agric. College, de gemma residual de pinto, recebida por elle em 1915

*P 5* — *Pullorum* 124, enviada por Rettger, da Yale Univ., sob o nome B' — 15, recebida por elle em 1916

*P 8* — *Pullorum* 125, idem, sob o nome R' — 15, recebida em 1916

*P 19* — *Pullorum* 123, idem, sob o nome Cosgr., recebida em 1916

*P 9* — *Pullorum* 129, enviada por Gage do Mass. Agric. Coll., sob o nome W 1, recebida em 1916

*P 11* — *Pullorum* 118, enviada por Hadley, R. I., sob o nome «gallinha adulta, New York», recebida em 1915

*P 1* — *Pullorum* 122, enviada por Rettger da Yale Univ., sob o nome A' — 16, recebida em 1916

*P 12* — *Pullorum* 128, enviada por Gage sob o nome T — 1, recebida em 1916

*G 27* — *Gallinarum* 115, enviada por Th. Smith, da Harward Univ., sob o nome *Bacterium sanguinarum* original, de Moore, recebida em 1915

*G 31* — *Gallinarum* 163, enviada por C. B. Bull do « Rockefeller Institut », sob o nome *B. avisepticus*, recebida em 1917

*G 29* — *Gallinarum* 207, enviada pelo Institute Pasteur de Paris, sob o nome Aube, recebida em 1920

*G 32* — *Gallinarum* 116, enviada por Th. Smith, sob o nome F — T II, recebida em 1915

*G 30* — *Gallinarum* 206, enviada pelo Institute Pasteur de Paris, sob o nome Seine et Meuse, recebida em 1920;

f) Adquiridas da American Type Culture Collection:

*P 2* — *Pullorum* 812, enviada por Buckley, isolada de ovario de gallinha, amostra Allen

*P 15* — *Pullorum* 813, enviada por Buckley, isolada de ovario de gallinha, amostra Roman

*P 3* — Pullorum 814, enviada por Buckley, isolada de sangue de pinto, amostra Covent

*P 22* *Pullorum* 815, enviada por Buckley, isolada de sangue de pinto, amostra Hatch

*P 18* — *Pullorum* 819, enviada por Rettger, sob o nome W' — 17.

*P 6* — *Pullorum* 820, enviada por Rettger, sob o nome Ov. — B — 26, isolada de ovario de gallinha.

*P 17* — *Pullorum* 814, enviada por Buckley, isolada de sangue de pinto, amostra Covent (P 3)

*G 37* — *Gallinarum* 811, de Buckley;

*g*) Isoladas no Brasil:

*G 33* — Isolada de gallinha pelo Dr. Calazans em 1927, em Porto Alegre, Rio Grande do Sul

*G 34* — Idem

*G 39* — *Pullorum* não gazogeno, isolado de gallinha pelos autores, em São Paulo, em 1930.

Aproveitamos a opportunidade para agradecer aos Professores acima referidos a gentileza da remessa das culturas enviadas por solicitação nossa.

* * *

De accordo com as informações originaes distribuir-se-iam as culturas acima enumeradas nos seguintes tyops:

1) *Pullorum* — P 24, P 25, P 27, P 21, P 14, P 10, P 16, P 7, P 20, P 13, P 4, P 5, P 8, P 19, P 9, P 11, P 1, P 12, P 2, P 15, P 3, P 18, P 6, P 17.

2) *Gallinarum* — G 36, G 27, G 31, G 29, G 32, G 30, G 37, G 33, G 34.

3) *Pullorum* «sensu latu» (Miessner[1]) — P 26, P 28, P 29, G 28.

No correr das investigações, entretanto, foi possivel fazer com ellas novo agrupamento, que aqui antecipamos, para maior clareza na exposição:

1) *pullorum* não gazogeno — P 1, G 39.

2) *pullorum* gazogeno — P 2 a P 6, P 8 a P 13, P 15 a P 19, P. 22.

3) denominado por nós *intermedius* — P 7, P 14, P 20, P 21, P 24 a P 27.

4) *gallinarum* — P 29, G 27 a G 34, G 36, G 37.

5) *gallinarum* gazogeno? — P 28.

---

[1] Em carta que nos enviou, acompanhando as amostras acima referidas, o Prof. Miessner assignala a impossibilidade de separar *pullorum* de *gallinarum*, a vista das variações de suas propriedades biochimicas, opinando, por isso, pela impossibilidade de ser mantida a denominação *Bacterium paradysenteriae* que anteriormente propuzera como meio de evitar o conflicto entre os nomes dados por Klein, Moore e Pfeiler. Prefere manter o nome especifico *B. pullorum*, discordando do nome *B. gallinarum* para os germens desse grupo.

## METHODOS DE TECHNICA

Sujeitamos essas amostras a um estudo bacteriologico completo, afim de servir de base a comparações futuras. Empregando technicas « standard », repetimos periodicamente, durante 3 annos, numa analyse das amostras estudadas tão detalhada como possivel, afim de surprehender qualquer modificação sobrevinda no decorrer desse tempo nas suas propriedades.

## MORPHOLOGIA

No grupo em questão bem pouco importantes são os caracteres de fórma, que nada differem de outros generos bacterianos. Além do mais, mostraram-se elles uniformes: pequenos bastonetes, arredondados nas extremidades, não fixando o Gram, dispondo-se mais vezes isolados, uma vez por outra formando cadeias de poucos elementos. Em culturas liquidas são vistos pequenos filamentos, formados em tempo relativamente curto. Quanto ao tamanho os bastonetes eram de regra muito curtos, coccobacillares, ás vezes corados mais intensamente nas extremidades que na parte central, resultando a apparencia de um vacuolo arredondado no meio do corpo. Nas formas mais longas as extremidades eram menos arredondadas e a zona descorada central não era vista.

## MOBILIDADE

Usamos em sua pesquisa o methodo classico da visão directa do deslocamento bacteriano em gotta pendente, utilisando culturas recentes em caldo peptonado, ou o methodo indirecto proposto por Hitchens. Consiste este na semeadura por picada central num agar semi-solido a 0.1 %. Si a bacteria é movel, ella invade em curto espaço de tempo todo o meio, turvando-o de maneira uniforme; cresce sômente numa linha de vegetação, si não é dotada de mobilidade. O methodo foi adoptado por Klimmer & Haupt para o exame da mobilidade em amostras de *pullorum* e *gallinarum*, com resultados concordantes com o exame classico da gotta pendente. Em nossas verificações augmentamos para 0.3 % o teor de agar do meio, para uma verificação mais nitida, eliminando tambem as possibilidades de erro por agitação accidentaes. Observações feitas com este meio concordam com os resultdos de Klimmer & Haupt e se applicam perfeitamente ao exame da mobilidade nesse grupo. De vantajoso apresenta o methodo evitar interpretações pessoaes, numa prova importante para o estudo desse genero bacteriano. Qualquer das duas technicas utilisadas permittiu catalogar todas as amostras

como immoveis, isto é, não se deslocando no campo microscopico, permanecendo em torno de limitado espaço, em movimentos molleculares oscillatorios, e crescendo em estrias, sem turvar o agar semi-solido de Hitchens. Controlamos a efficiencia das provas neste meio, com amostras de outras *Salmonellas*, e com representantes do genero *Proteus*.

## MORPHOLOGIA DAS COLONIAS

Em meios solidos, devido á exhuberancia mais pronunciada do *gallinarum*, suas colonias são de ordinario maiores que as de *pullorum*. Taylor em 1916 descreve as colonias de *gallinarum*, redondas, lisas, pouco elevadas, grandes, de textura finamente granulosa e de consistencia um tanto pegajosa, e as de *pullorum*, menores e mais elevadas. Suas verificações são confirmadas por Goldberg em 1917. Posteriormente, em 1927, occupam-se do assumpto Beck & Eber, em mais demorada analyse. Elles encontram no *gallinarum* colonias medindo 1 mm. de diametro, após um dia de incubação a 37°, apresentando coloração branco-cinza no meio de Drigalski; vistas á luz transmittida são transparentes; o *pullorum* cresce em colonias mais pequenas, medindo 1/2 mm., com um dia de incubação a 37°, attingindo a 1 e 1 1/2 mm. no segundo ou terceiro dias de crescimento em estufa a 37°.

Pela sua descripção, a morphologia das colonias de *pullorum* seria analoga a dos bacillos dysentericos, emquanto as de *gallinarum* se approximariam mais das salmonellas.

Tambem Lerche em 1929 descreve com minucias o aspecto das colonias em agar. Encontramos mais uma vez assignalado, entre suas referencias, serem as colonias de *pullorum* muito tenues neste meio, não obstante, com excepções; o centro em roseta, tambem foi por nós observado. Interessante, egualmente, é a verificação de Lerche, do apparecimento de pequenas colonias sobre o inducto crescido no agar semeado em estria, lembrando contaminação. Elle viu que o crescimento no agar é mais vigoroso com o *gallinarum* que com o *pullorum*. Esta observação foi recentemente confirmada por Edwards (1932), que observou ainda o apparecimento de colonias secundarias em 100 % de suas amostras, passiveis de serem seleccionadas, dando uma linhagem pura e que, entretanto, a não ser no modo de crescimento no agar, em nada mais se differenciam das culturas originaes.

Outra particularidade relevante na morphologia das colonias é a

producção do annel mucoso, encontrado no *gallinarum* por Gressel em 1927 e não visto no *pullorum* por Miessner & Berge, em 1928, propriedade considerada desvaliosa por Lerche, pois encontrou-a apenas em 13 de 67 amostras estudadas por elle e nem em todas nitidamente; dellas 6 eram gazogenas (*pullorum*) e 7 não gosavam desta propriedade.

Nada ha na litteratura além da referencia de Lerche e de Edwards, vista acima, quanto á producção de colonias filhas pelos dois germens, *pullorum* e *gallinarum*.

Quanto ao aspecto das colonias nos meios especiaes de isolamento das Eberthellas e Salmonellas, além do que foi dito acima em relação ás observações de Beck & Eber, encontram Konno, em 1929 e Pfeiler & Standfuss em 1919, o *gallinarum* produzindo colonias de tonalidade azul no meio de Drigalski e colonias incolores no meio de Endo. Lerche observa que o *pullorum* produz no Drigalski colonias muito delicadas, invisiveis a olho nu nas primeiras 24 horas de cultura, mas encontrou amostras desta bacteria crescendo exhuberantes nesse meio. Houve algumas que attingiram até 3 e 4 mm. de diametro, conservando a tonalidade azul ou envermelhecendo levemente na parte central. Klimmer & Haupt em 1927-29 utilisam o meio de Gassner no estudo das colonias e encontram no *gallinarum* amostras com a fórma das bacterias do genero *Escherichia* (*coli*) nesse meio, isto é, colonias grandes, ao lado de outras pequenas, apresentando o aspecto de colonia de *Eberthella typhi* (*Salmonella typhosa*).

Pfeiler & Standfuss verificam ainda que o *pullorum* vegeta mal no meio de Gassner. Beck & Eber concluem ser o meio de Gassner improprio á vegetação do *pullorum*, mal vegetando nelle; tal não succede com o *gallinarum*, que ahi cresce em colonias grandes, de tonalidade francamente amarella; o typo « proximo » do *gallinarum*, não fermentador da maltose, por elles descripto, produz colonias de tonalidade amarella pouco intensa. Klimmer & Haupt chegam a resultados analogos quanto á morphologia de colonias no meio de Gassner. Seu typo II de *pullorum*, que é igual ao que descreve Rettger, dá no meio de Gassner colonias pequenas, incolores; o typo I, que pode ser approximado do typo « intermediario » de Beck & Eber, dá nesse meio colonias amarellas e grandes. Recentemente Guenther, 1933, verifica tambem fraco desenvolvimento do *pullorum* no meio de Gassner, onde suas colonias são tenues e não excedem de 1 mm. de diametro, após muitos dias de incubação, deixando o meio inalterado. O *gallinarum* cresce ahi em colonias maiores, de côr amarello-esverdeado. Algumas amostras deram nesse meio colonias grandes e colonias pequenas, cujos caracteres biochimicos não as collocavam em typos differentes.

Ensaia Malmann o seu meio com essas duas salmonellas sem nada assignalar quanto á morphologia de colonias.

Nossas verificações de crescimento em agar simples confirmam inteiramente as dos outros investigadores em relação ao *pullorum* não gazogeno, constante productor nelle de colonias muito tenues e de lento crescimento. As amostras de *pullorum* gazogeno por nós acompanhadas quasi se não differenciavam dos typos *intermedius* e *gallinarum* quanto ao aspecto da colonia e á exhuberancia do crescimento. Entre elles é muito commum o centro apiculado, de tonalidade amarella, ou deprimido, pregueado e sem coloração. Estes aspectos do centro das colonias são bem visiveis no 3.º ou 4.º dia de crescimento a 37º. Nos typos *intermedius* e *gallinarum* não differem as colonias das colonias das *Salmonella paratyphi* (*B. paratyphosus A*), permanecendo com o centro sempre transparente. Impossivel tambem nos foi qualquer differenciação no induto em agar, a não ser com as amostras de *pullorum* não gazogeno, cujo crescimento foi constantemente delicado e finamente granuloso, crescendo os demais exhuberantes, em induto liso.

Em relação aos meios selectivos, dirigimos nossa attenção inicialmente para a morphologia no de Holt-Harris & Teague, não empregado ainda no estudo da morphologia de colonias desses germens.

Neste meio nenhuma differença foi encontrada de particular na morphologia das colonias, mas serviu para estudo minucioso de seu aspecto. Tanto *pullorum* quanto *gallinarum* geraram nelle colonias de tamanhos variando entre 1,5 a 3,5 mm., em 72 horas; após 24 horas as colonias eram lisas, regularmente arredondadas, convexas, incolores, transparentes ou ligeiramente opacas, com centro negro ou arroxeado, e bordos regulares. Havia ligeiras divergencias de uma amostra para outra, taes como aspecto levemente granuloso, bordos franjados. Taes divergencias foram tambem vistas em colonias da mesma amostra, na mesma placa de meio. Tambem appareciam variações de tamanho na mesma placa com a mesma amostra, dependendo de sua agglomeração. Os *pullorum* não gazogenos não foram estudados nesse meio.

Não referiram-se Malmann, Thorp & Sammes á morphologia de colonias no seu meio, proposto de 1928 especialmente para isolamento do *pullorum*; o meio contem verde brilhante na proporção de 1:200.000, como substancia impediante á flora de contaminação. Observamos nesse meio, após 24 horas de crescimento, a existencia de caracteres differenciaes entre as colonias de *pullorum* e *gallinarum*, ligando-se ao ultimo o typo «intermediario» descripto por Beck & Eber, Klimmer & Haupt.

Pode-se encontrar no quadro abaixo o resumo desses caracteres:

**Quadro 1**

Caracteres das colonias em meio de Malmann, após 24 horas de incubação a 37°.

| Aspectos das colonias | *Pullorum* gazogeno, 15 amostras | *Pullorum* não gazogeno, 2 amostras | *Intermedius* 6 amostras | *Gallinarum* 9 amostras |
|---|---|---|---|---|
| Minusculas 1,5 mm. | 7 | 1 | 0 | 0 |
| Pequenas 1 — 1,5 mm. | 2 | 1 | 0 | 0 |
| Medias 1,5 — 3 mm. | 4 | 0 | 1 | 3 |
| Grandes 3 — 4 mm. | 2 | 0 | 4 | 6 |
| Incolores | 15 | 1 | 5 | 9 |
| Hyalinas | 7 | 0 | 0 | 0 |
| Opalescentes | 5 | 1 | 3 | 2 |
| Centro opaco | 3 | 0 | 2 | 7 |
| Superficie lisa | 13 | 1 | 4 | 9 |
| Superficie rugosa | 2 | 0 | 1 | 0 |
| Bordos regulares | 12 | 1 | 4 | 7 |
| Bordos ondulados | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Bordos franjados | 2 | 0 | 0 | 2 |
| Conteúdo homogeneo | 7 | 0 | 0 | 0 |
| Conteúdo granuloso | 8 | 1 | 5 | 9 |
| Superficie brilhante | 15 | 1 | 5 | 9 |
| Foscas | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Rasas | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Pouco elevadas, convexas | 3 | 0 | 4 | 7 |
| Globosas | 11 | 1 | 1 | 2 |
| Apiculadas no centro | 2 | 0 | 0 | 0 |

Percebe-se uma tendencia á differenciação dos typos nesse meio, si bem que houvesse casos de differenciação duvidosa.

O *pullorum* produz no meio de Malmann colonias pequenas ou mesmo minusculas, incolores, hyalinas ou opalescentes, globosas, de superficie lisa, brilhante, com bordos regulares e conteúdo homogeneo ou levemente granuloso. Diverso é o aspecto do *gallinarum*, cujas colonias são de tamanho médio ou grande, convexas, incolores ou opalescentes, particularmente na parte central da colonia, de superficie lisa ou levemente rugosa, brilhantes, bordos regulares.

Foi encontrada em uma amostra de *pullorum* (P 11), o aspecto descripto por Kraus em 1919 para o *gallinarum*, isto é, formação de aneis excentricos, dando a impressão de concha. Parece-nos, no emtanto,

ser esta apparencia da colonia devida exclusivamente á difficuldade de sua expansão regular, quando situada muito proxima de outras. Algumas vezes encontramos um botão central elevado, ou superficie montanhosa, nos *gallinarum* e no typo *intermedius*.

Outro meio utilisado para estudo das colonias foi o agar-ovo, supposto por nós apropriado ao desenvolvimento dessas bacterias, dada a preferencia do *pullorum* para fixar-se no ovario e no ovo. Entra em sua composição agar, caldo de carne commum, fundido e resfriado a 42°, addicionado de 10 % de gemma d'ovo, colhida asepticamente e não aquecida. Depois de bem misturada comprova-se a esterilidade durante 1 a 2 dias de estufa. A este meio foi ajuntado verde brilhante na proporção de 1 para 200.000.

Não nos permittimos opinar sobre seu valor como meio de isolamento porque não repetimos tentativas neste sentido em numero de vezes bastantes, mas resultados interessantes foram dados pelo aspecto das colonias.

**Quadro 2**

Caracteres das colonias crescidas no agar-ovo, observadas após 5 dias a 37°.

| Aspectos das colonias | *Pullorum* gazogeno, 17 amostras | *Pullorum* não gazogeno, 1 amostra | *Intermedius* 7 amostras | *Gallinarum* 12 amostras |
|---|---|---|---|---|
| Grandes — mais de 3 mm. | 4 | 0 | 0 | 8 |
| Medias — 1,5 a 3 mm. | 2 | 1 | 5 | 4 |
| Pequenas — menos de 1,5 mm. | 11 | 0 | 2 | 0 |
| Não alteram o meio | 11 | 1 | 1 | 6 |
| Enverdecem o meio | 5 | 0 | 6 | 6 |
| Superficie lisa | 7 | 0 | 1 | 5 |
| Superficie rugosa | 10 | 1 | 7 | 10 |
| Esparramadas | 1 | 0 | 3 | 3 |
| Pouco elevas, chatas | 7 | 1 | 6 | 8 |
| Globosas | 6 | 0 | 0 | 1 |
| Apiculadas | 5 | 0 | 0 | 4 |
| Bordos regulares | 6 | 0 | 2 | 1 |
| Bordos ondulados | 5 | 0 | 3 | 3 |
| Bordos denteados | 6 | 1 | 4 | 8 |
| Brilhantes | 13 | 0 | | 4 |
| Foscas | 4 | 1 | | 8 |

Mais frequentes foram o aspecto rugoso e secco e a tendencia ao esparramamento das colonias, parecendo ser o meio favoravel á formação deste typo de colonias. O *pullorum* aqui, mais que no meio precedente, fornece colonias pequenas, brilhantes e salientes, em predominancia

sobre o *gallinarum*, que as apresenta mais vezes maiores, mais esparramadas, rugosas e sem brilho.

É de notar tambem que menos influem os *pullorum* sobre a tonalidade amarella do meio. A côr verde é provavelmente devida á acção da bacteria sobre o pH do meio, e como consequencia, sobre o verde-brilhante.

Examinamos as colonias crescidas em agar litmado preparado do seguinte modo: Agar caldo de carne a 2 % (ph 7,4), 100 cc.; Maltose purissima Merck, 1 gr.; Azolitmina Merck, em sol. a 1 %, 5 cc. Este meio, calcado no Drigalski, tinha por transparencia coloração azulada, levemente violacea.

**Quadro 3**

Aspectos das colonias em meio litmado, após 5 dias [2] a 37°.

| Aspectos das colonias | *Pullorum* gazogeno, 6 amostras | *Pullorum* não gazogeno, 2 amostras | *Intermedius* 7 amostras | *Gallinarum* 7 amostras |
|---|---|---|---|---|
| Azulece o meio | 2 | 2 | 3 | 0 |
| Indifferente | 4 | 0 | 0 | 0 |
| Envermelhece o meio | 0 | 0 | 6 | 7 |
| Grandes colonias | 2 | 2 | 3 | 6 |
| Colonias medias | 0 | 0 | 6 | 0 |
| Colonias pequenas | 4 | 0 | 1 | 11 |
| Centro azul | 4 | 2 | 3 | 0 |
| Centro vermelho | 0 | 0 | 4 | 7 |
| Centro incolor | 2 | 0 | 3 | 0 |
| Hyalinas | 4 | 0 | 0 | 0 |
| Opalescentes | 2 | 2 | 7 | 1 |
| Opacas | 0 | 0 | 7 | 6 |
| Lisas | 5 | 2 | 7 | 6 |
| Rugosas | 1 | 0 | 3 | 1 |
| Globosas | 1 | 0 | 0 | 4 |
| Convexas | 5 | 2 | 6 | 3 |
| Rasas | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Centro continuo | 4 | 2 | 6 | 7 |
| Centro elevado | 3 | 0 | 0 | 0 |
| Centro em cratera | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Bordos regulares | 4 | 1 | 6 | 1 |
| Bordos franjados | 3 | 1 | 0 | 6 |

[2] — Leitura tardia porque o meio era um tanto impediente ao crescimento.

Nota: — Outros caracteres foram menos importantes porque eram communs e constantes em todos os typos. Assim a superficie, humida e brilhante, a forma tendente a circular.

Infere-se do quadro ter o *pullorum* menor influencia sobre o meio que o *gallinarum*. As colonias *pullorum* são ahi em geral pequenas, redondas, convexas, hyalinas, lisas, humidas, brilhantes. Ha excepções, observadas com a mesma amostra, encontrando-se colonias que se approximam do *gallinarum*. O typo de crescimento mais simples é o observado com a amostra P 3, por exemplo, cujas colonias são pequenas, redondas, globosas, lisas, homogeneas, opalescentes ou levemente granuladas no centro; alcalinisam o meio. Variação foi encontrada com P 10, que apresenta evidente precipitado granuloso no centro da colonia, rodeado de um annel saliente, apparentando umbellicamento do centro da colonia. Não alcalinisa o meio. P 12 e P 13 acarretam precipitação central mais accentuada ainda. Todos elles (P 3, P 10, P 12 e P 13), crescem em colonias pequenas. G 39, *pullorum* não gazogeno, comporta-se de outro modo. Dá colonias grandes e razas, si bem que homogeneas, com pequena precipitação central, lisas, opalescentes. As colonias de sua companheira, não gazogena, P 1, differem della sómente por apresentarem bordos elevados, terminando bruscamente. Vimos typos *pullorum*, P 18 e P 22, gazogenos, produzirem colonias grandes, granulosas, razas, encaixilhadas por bordos elevados, ligeiramente crenelados e terminando bruscamente. Todas as colonias de *gallinarum* acidificam o meio, como era de esperar, graças á sua acção fermentativa sobre a maltose. Ellas se filiam no meio litmado a um padrão quasi uniforme. São grandes, incolores, com precipitado granuloso central, opacificando-se mais com o envelhecimento. São mais globosas que convexas, redondas, lisas ou ligeiramente rugosas, brilhantes e apresentam bordos franjados ou denteados, terminados em rapido declive. As variações deste typo « standard » dizem respeito aos bordos, denteados mais profundamente, como na G 31; nas amostras G 27, G 32 e P 28, o aspecto dos bordos era identico ao de algumas amostras *pullorum*, isto é, finamente crenelados. Duas veves appareceram colonias mucosas, vistas em G 30 e G 36. P 29, outra amostra *gallinarum*, deu colonias pequenas, redondas, de bordos quasi lisos, inteiramente hyalinas, identicas as do typo *pullorum*.

O typo *intermedius* comportou-se como o *gallinarum*. Observamos nelle entretanto, grandes variações no tamanho das colonias na mesma placa, o que levou-nos a isolar e estudar inumeras dellas a ver se correspondiam a differenças culturaes, sem conseguir encontral-as. Suas colonias eram inicialmente lisas, convexas, quasi globosas, de tamanho médio e regulares nas dimensões. Agiam sobre o meio acidificando-o, com

regressão posterior, ou não actuavam sobre elle. Entre os 3.º e 5.º dias attingem o maximo de crescimento e iniciam expansões irregulares, azuladas, partidas debaixo dos bordos, alterando profundamente o aspecto regular da colonia. O centro da colonia, homogeneo no inicio da vegetação, dá, com o tempo, um precipitado escuro, cada vez mais intenso, propagando-se a toda colonia, opacificando-a. Depois do 5.º dia processa-se uma transformação mucosa da colonia que a torna leitosa, aspecto que pode ser apreciado nas photographias 1 a 5, feitas com P 25, nas quaes se podem ver varias phases dessas transformações. Esse aspecto mucoso foi encontrado no *gallinarum* por Pfeiler & Hoepke, cujas amostras tendiam á confluencia. Entretanto, é opinião de Gressel, como tambem de Lerche, 1929, que só em placas de Gassner se observam colonias mucosas.

Usamos tambem o meio de Gassner, ultimamente preferido para a differenciação do *pullorum* e *gallinarum*; é elle composto de agar lactosado e dois corantes associados, o wasserblau e o metachromgelb, indicadores de pH, acima e abaixo de 7,0.

Nossas observações combinam, em parte, com as dos pesquizadores referidos no inicio deste capitulo. Resulta da nossa experiencia que as colonias de *pullorum* vegetam bem nesse meio; os gozogenos produzem colonias de coloração fracamente amarella; os não gazogenos dão colonias incolores, ou mesmo levemente azuladas; o typo *intermedius* exhibiu-se como o *gallinarum*, que o amarellou francamente.

Neste capitulo podemos referir o que nos foi dado observar com um meio de agar chumbo, apropriado á verificação da producção de gaz sulphydrico. Nesse meio, 3 de 5 amostras *gallinarum* produziram, dentro de 20 dias, numerosas e exhuberantes colonias-filhas, exactamente identicas ás observadas por Edwards (1932); este phenomeno foi observado apenas com uma amostra de *pullorum* e com uma de *intermedius*, dentre 12 desses dois typos examinados naquelle meio. O aspecto tambem foi citado por Lerche para o crescimento em induto no agar simples.

Um meio que se nos mostrou particularmente favorvael á producção de colonias filhas é o agar litmado sorbita, em placas. Essas formações ahi apparecem no 5.º dia de cultura, quasi constantes nos *pullorum* gazogenos, *intermedius* e *gallinarum* (V. photographia 5)

## EM RESUMO

Não é possivel extrahir, da analyse morphologica das colonias nos meios culturaes acima enumerados, elementos bastantes á distincção typica dessas bacterias. Fornece essa analyse, quando muito, dados auxi-

liares á differenciação. Vimos tantas excepções e tão frequentes anomalias, no reduzido numero de amostras estudadas, que torna extremamente precaria qualquer differenciação baseada nos caracteres de colonias.

Querendo levar em conta esses elementos para auxiliar a caracterisação, parece-nos vantajoso não esquecer a menor tendencia do *pullorum* não gazogeno á producção de colonias filhas no meio de agar chumbo e na sorbita; este caracter tem importancia, já se vê, em estudo de grupos de amostras, pouco valendo numa amostra estudada isoladamente.

Seja dito, de passagem, que tivemos em mãos, recebidos do Prof. Miessner, uma amostra (P 28) pertencente ao grupo recentemente assignalado por Beck & Eber (1929) e confirmado por Günther, 1933, classificado por estes como um typo *gallinarum* gazogeno. Pelos caracteres até aqui descriptos, esta amostra não pode ser differenciada do typo *gallinarum* não gazogeno.

## PROVAS BIOLOGICAS

### I — *Em meios de cultura*

*Acção sobre caldo de carne peptonado.* — Quasi todos estão de accôrdo em que essas bacterias dão ao caldo turvação uniforme. As discordancias começam em relação á producção de pellicula, collar e deposito. Truche refere a formação de collar em amostras de *gallinarum* por elle estudadas em 1923. O mesmo assignala Konno em 1929, nos seus typos A e B, correspondentes ambos ao *pullorum*; além do mais produzem pellicula. Silenciam quanto á producção de collar e pellicula Kaupp & Dearstyne em 1925, emquanto Kraus, em 1919, Beaudette, Buschnell & Payne em 1923, referem a producção de deposito tardio, depois da turvação do meio.

Todas as amostras por nós estudadas deram no caldo turvação homogenea em 24-48 horas e do 5.º dia em deante, iniciava-se a formação de deposito pulverulento, com apparente mas não completo clareamento do meio. Essa acção não é exclusiva do caldo de carne peptonado, tendo sido observada tambem no caldo pancreatico. Pareceu-nos frequente a producção de collar, mas foi inconstante na sua formação com a mesma amostra e na mesma partida de caldo, em semeaduras repetidas. Apenas uma vez vimos se produzir pellicula com uma amostra, formação impossivel de se reproduzir nas semeaduras seguintes. É possivel que sejam necessarias especiaes condições physicas para sua formação, tal qual succede com bacterias de outros generos, porque a cul-

tura onde a vimos produzir-se estava seguramente pura. O crescimento como deposito granular no caldo, assignalado por Mathews em 1926, numa amostra de *gallinarum*, e tambem por Konno, no seu typo A de *pullorum*, pode ser attribuida á presença de variantes rugosas, como foi referido por St. John Brooks & Rhodes, em relação á *Shigella jeffersoni*, considerada por elles como uma variante rugosa de *gallinarum*. As amostras P 1 (*pullorum* não gazogeno), P 3 (*pullorum* gazogeno) e G 30 (*gallinarum*), derivaram linhagens que cresceram no caldo com esta apparencia.

*Producção de indol.* — Existe completo accôrdo entre os pesquizadores na incapacidade indologena dessas bacterias. Valendo-nos do methodo de Ehrlich, cultivando as amostras em agua peptonada a 3 %, e realisando a prova no 8.º dia de cultura a 37º, não observamos a existencia deste corpo nas culturas de todas as amostras estudadas por nós.

*Propriedades fermentativas.* — Foram investigadas:

1) Sobre leite e sôro de leite tornasolados. — Ninguem observou ainda coagulação do leite, mas a sua acidificação passageira foi referida com o *gallinarum* por Pfeiler & Standfuss em 1919, Pfeiler & Hoepke em 1917, e com o *pullorum* por Beaudette, Buschnell & Payne em 1923, e por Spray & Doyle em 1921. Segundo estes autores á acidificação segue-se quasi sempre alcalinisação do meio, e Mulsow acha ser o *gallinarum* alcalinisador mais rapido que o *pullorum*.

Manninger, em 1928, refere que Hadley encontrou amostras de *pullorum* capazes de exercer sobre o leite acidificação permanente, e que Pfeiler assignala a existencia de amostras de *gallinarum* capazes de alcalinisar lentamente o leite. Manninger acredita ser instavel esta propriedade: em 1921 suas amostras acidificavam o leite e em 1927 provocavam viragem a alcali, lentamente. As amostras de *gallinarum* isoladas em 1926 davam dupla viragem, excepto uma, e assim tambem se comportavam amostras recebidas naquella occasião de outros laboratorios. De seu estudo neste particular conclue que a alcalescencia depende da energia vegetativa porque todas as amostras alcaligenas vegetavam melhor nos meios de cultura.

Em relação ao sôro de leite dizem Pfeiler & Standfuss ser acidificado permanentemente pelo *pullorum*, com uma excepção: o *gallinarum* daria dupla viragem, o que lhe valeu a denominação de *B. typhi gallinarum alcalifaciens*, dada por Pfeiler. Beck & Eber (1927 e 1929), e Guenther (1933), observam tambem a acidificação permanente desse meio com o *pullorum* e sua viragem pelo *gallinarum*. Miessner & Berge em

1928 observam acidificação inicial do meio, seguida de alcalinsação dentro de 3-4 dias, ou um pouco mais tarde.

O leite e o sôro de leite com que trabalhamos, foram ajuntados de azolitmina Merck. Houve constante e permanente acidificação destes meios pelas amostras observadas, exceptuando-se P 7, alcalinisadora desde inicio. Notamos pouca frequencia de dupla viragem; essa alteração procedia-se ás vezes muito de vagar, sendo apreciavel depois de 30 ou 40 dias de cultura a 27°. A dupla viragem no sôro de leite nem sempre se acompanhava do mesmo phenomeno no leite tornasolado; podia existir neste e não ser vista no sôro de leite, e vice-versa. *Pullorum* e *gallinarum* comportam-se de modo analogo nesses meios.

Cotejando as summulas de variação provocadas no leite e no sôro de leite tornasolados, durante 3 annos em que foram as nossas amostras acompanhadas, verificamos numerosas discordancias nos resultados, facto que se pode explicar pela inconstancia da composição do meio; estas discordancias já foram apontadas por Manninger, que achou suas amostras, fermentadoras permanentes em 1921, darem dupla viragem em 1928, dentro de 2-7 semanas, com excepção de uma.

Dispensamo-nos, por isso, de reproduzir os quadros daquellas modificações. Não podemos endossar os resultados dos trabalhos recentes de Guenther e de Beck e Eber, que attribuem a este meio grande valor diagnostico para os typos ora estudados.

2) *Sobre o vermelho neutro.* — Embora a alteração desse indicador não seja derivada de uma acção fermentativa directa, incluimos aqui o seu estudo. Usamos o meio inicial de Rothberger e diversas modificações. Takaianagi, em 1926, e Cilli em 1932, investigaram a modificação do vermelho neutro na caracterisação do *gallinarum*, não tendo observado alteração dessa substancia corante. Observações com vermelho neutro fazem Pfeiler & Standfuss, Kraus, e Beck & Eber. Estes ultimos notam que sómente o *pullorum* gazogeno, produz no meio de Rothberger fluorescencia, caracter aproveitavel na differenciação dos dois germens, *pullorum* e *gallinarum*. Recentemente Beck & Eber descrevem tambem um typo *gallinarum*, « gazogeno », que se comporta em relação ao vermelho neutro como o *pullorum* gazogeno.

Inicialmente preparamos o meio de Rothberger com a modificação de Schaeffler, isto é, addicionando ao caldo glycosado a 1 %, solução saturada de vermelho neutro, até obter uma tonalidade vermelho cardeal (mais ou menós 1/4.000), e mais agar 1 %.

Numa primeira passagem nesse meio ficaram nossas amostras divididas em dois grupos, relacionados estreitamente com a capacidade gazogena, como se vê no quadro 4.

**Quadro 4**

Acção sobre o meio com vermelho neutro de Rothberger-Schaeffler.

| Grupo de germens | Nome da amostra | 1 dia | 5 dias | 10 dias |
|---|---|---|---|---|
| *Pullorum* não gazogeno | P 1 e G 39. | 0 | 0 | 0 |
| *Pullorum* gazogeno | P 2, P 4, P 5, P 6, P 8, P 9, P 10, P 11, P 12, P 13, P 15, P 16, P 18, P 19, P 22. | 0 | FG | FG |
| | P 3 e P 17. | 0 | 0 | 0 |
| *Intermedius* | P 7, P 14, P 20, P 21, P 24. P 25, P 26, P 27. | 0 | 0 | 0 |
| *Gallinarum* | P 29, G 27, G 28, G 33, G 30, G 31, G 32, G 34, G 36, G 37. | 0 | 0 | 0 |
| *Gallinarum* gazogeno ? | P 28. | 0 | 0 | FG |

*Notações:* F, fluorescencia; G, gaz; 0, inalterado.

A não ser P 3 e P 17, todas as demais subordinaram a capacidade de fluorescencia, sem excepção, á sua capacidade gazogena nos meios de cultura, como vimos acima com Beck & Eber. Imaginamos, por isso, estar o phenomeno adstricto á fermentação da glycose, até gaz. Substituimol-a pela maltose, na mesma proporção.

Eis os resultados comparados dos dois meios, com glycose e com maltose no quadro 5.

Seria desconcertante o resultado, a vista da concordancia obtida com os dois assucares, em comparação, si não viesse elle demonstrar ser a alteração do corante independente da fermentação do assucar, uma vez que a maltose, nas condições da experiencia, não é alterada pelo *pullorum*. Convem assignalar que as discrepancias observadas nas primeiras provas com P 3, P 17 e G 29, não se confirmaram. Ficou assim provada desnecessaria a fermentação dos assucares até gaz, ou mesmo um incompleto desdobramento do assucar, para a producção da fluorescencia com o vermelho neutro; demais, isto se poderia suppor logo da primeira experiencia, pois o *gallinarum*, embora desdobre a glycose, não altera o vermelho neutro.

Procuramos penetrar um pouco mais na essencia do phenomeno da alteração bacteriana do vermelho neutro. A fluorescencia é primeiro vista nas partes inferiores das culturas em camada alta. Cumpria veri-

Quadro 5

Acção sobre o vermelho neutro em meio glycosado e maltosado (1930).

| Typo | Nome de amostras | Glycose | | | | | Maltose | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 d. | 2 ds. | 3 ds. | 5 ds. | 10 ds. | 1 d. | 2 ds. | 3 ds. | 5 ds. | 10 ds. |
| *Pullorum* não gasogeno | P 1, G 39 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Pullorum* gazogeno | P 2, P 15 | 0 | 0 | fg | fg | fg | 0 | 0 | 0 | fg | fg |
| | P 3 | 0 | 0 | 0 | fg | fg | 0 | 0 | fg | fg | fg |
| | P 4 | g | fg | fg | fg | fg | 0 | fg | fg | fg | fg |
| | P 5, P 19 | 0 | fg | fg | fg | fg | 0 | 0 | 0 | fg | fg |
| | P 6, P 10, P 11, P 12 | 0 | 0 | fg | fg | fg | 0 | 0 | fg | fg | fg |
| | P 8, P 16 | g | fg | fg | fg | fg | 0 | 0 | fg | fg | fg |
| | P 9, P 22 | 0 | 0 | fg | fg | fg | 0 | 0 | 0 | fg | fg |
| | P 13 | 0 | 0 | 0 | fg | fg | 0 | 0 | 0 | fg | 0 |
| | P 17 | 0 | 0 | 0 | fg | fg | 0 | 0 | 0 | fg | fg |
| | P 18 | 0 | 0 | 0 | 0 | fg | 0 | 0 | 0 | fg | fg |
| *Intermedius* | P 7, P 14, P 20, P 21, P 24, P 25, P 26, P 27 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Gallinarum* | P 29, G 27, G 28, G 29, G 30, G 31, G 32, G 33, G 34, G 36, G 37 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Gallinarum* gazogeno ? | P 28 | 0 | fg | fg | fg | fg | 0 | fg | fg | fg | fg |

*Notações:* f, fluorescencia; g, gaz; 0, inalterado.

ficar agora o apparecimento desse phenomeno em meios altamente reductores, ou em anaerobiose.

Para medir a acção da anaerobiose sobre a alteração do vermelho neutro usamos o meio sem glycose, ou enriquecido com este assucar, em proporcões variaveis. Cobrimos com vaselina solida os tubos destinados á anaerobiose, manobra que garante sufficiente impermeabilidade, conforme demonstrou-o Thompson, em 1920. Semeamos os tubos com bacterias bem conhecidas na sua acção sobre o vermelho neutro.

Vê-se, pelo quadro 6, que a glycose, segundo o grau de concentração, pode não facilitar ou mesmo impedir o apparecimento da fluorescencia. A anaerobiose, pelo contrario, favorece nitidamente o seu apparecimento.

Quem primeiro propoz o vermelho neutro na differenciação bacteriana foi Rothberger. Seu meio era preparado ajuntando esse corante ao caldo de carne, que sempre contem glycose, em quantidade variavel com a qualidade da carne. Schaeffler addicionou-lhe a glycose em natureza, vimos acima, porque viu apressar-se com sua presença a alteração do meio, que hoje se sabe ser devido á acção reductora deste assucar sobre o oxygenio do meio.

Ao lado da fluorescencia soffre o vermelho neutro uma alteração para amarello, ligada á mudança do pH do meio, quando nelle vegetam certas bacterias. Varia o *spectrum* do vermelho neutro desde o vermelho purpura, quasi violeta, até o amarello canario, quando passa da esphera acida para a alcalina. É esta a modificação de coloração mais facilmente observada, e ella é vista ao lado da fluorescencia sob a acção de certas bacterias. Foi Rochaix quem chamou a attenção para a complexidade do phenomeno, demonstrando que as causas da fluorescencia e do amarellecimento eram diversas. Sómente as bacterias provocadoras de fermentação ammoniacal acarretam amarellecimento do vermelho neutro. Juntamente com Dufourt, encontrou Rochaix bacterias, como o *Bacillus subtilis*, a *Pseudomonas aeruginosa (B. pyocyanico)* e salmonellas, que davam no meio com vermelho neutro fluorescencia sem amarellecimento, porque não eram ammoniogenicas. Germens como a *Escherichia coli*, capazes de transformar a uréa em carbonato de ammonia, segundo as verificações de Hallé & Dissart, dão amarellecimento, além da fluorescencia. Guerbert analysa chimicamente o phenomeno e vê que a fluorescencia resulta da presença de hydrogenio em estado nascente, tratando-se, portanto, de um phenomeno de reducção. A asserção não quer dizer que qualquer reductor seja capaz de provocar fluorescencia no vermelho neutro. Empregamos numerosas substancias com esta capacidade, e mesmo os mais energicos reductores, como os sulfitos e hydrosulfitos,

**Quadro 6**

Alterações do vermelho neutro em aerobiose e anaerobiose, comparativamente

| Meio de cultura | Sem vaselina | | | | | | Com vaselina | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Porcentagem de glycose | 0 o/o | | 1 o/o | | 5 o/o | | 0 o/o | | 1 o/o | | 5 o/o | |
| Tempo de incubação | 1 d. | 2 ds. | 1 d. | 2 ds. | 1 d. | 2 ds. | 1 d. | 2 ds. | 1 d. | 2 ds. | 1 d. | 2 ds. |
| *Salmonella schottmülleri* (*B. paratyphosus* B) | 0 | 0 | G | FG | G | FG | F | F | G | FFG | G | GG |
| *Aerobacter aerogenes* (*B. aerogenes*) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | F | FF | G | FG | G | G |
| *Proteus specimen* | F | F | FG | FG | G | FFG | FF | FF | FG | FFG | G | FG |
| *Escherichia coli* (*B. coli*) | 0 | 0 | G | G | G | G | FF | FF | G | FG | G | G |
| *Salmonella specimen* | 0 | 0 | G | FG | 0 | 0 | F | FF | G | FG | G | G |
| CONTRAPROVAS | | | | | | | | | | | | |
| *Shigella dysenteriae* (*B. dysenteriae* Shiga) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Shigella paradysenteriae* (*B. dysenteriae*, Flexner) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Salmonella typhosa* (B. typhosus) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

não acarretam o apparecimento da fluorescencia. O proprio hydrogenio, si não brota de uma reacção chimica no momento, é incapaz de produzir fluorescencia. Juntando-se um alcali, o corante amarellece e apresenta então a concomitancia dos dois phenomenos. Pode-se concluir, desse geito, haver ao mesmo tempo reducção e alcalinisação do corante. É provavel ser devida ao poder reductor da glycose a sua acção favorescedora á producção da fluorescencia assignalada por Schaeffler, porque no seu desdobramento pela bacteria pode gerar-se e se gera hydrogenio em estado nascente.

A exigencia de forte potencial reductor para o apparecimento do phenomeno esclarece a vantagem das condições de anaerobiose para acceleral-o, e explica porque nas experiencias do quadro 5, a glycose sobrepujou a maltose na producção da fluorescencia, que acompanhou a formação de gazes, incluindo hydrogenio, no meio com aquelle assucar. Somma-se ainda a esta particularidade, a conhecida acção reductora da glycose, razão pela qual este assucar favorece mais a producção da fluorescencia que a maltose, menos energica neste particular. As bacterias do genero *Proteus*, que parecem oppor-se a esta hypothese, porque apezar de pouco gazogenas são fortes fluorescedoras do vermelho neutro, agem, provavelmente, como germens altamente reductores, provocando por si mesmos um estado favoravel do meio de cultura.

Dos ensaios levados a effeito para conhecer a natureza da flurescencia chegamos ao arranjo de um meio no qual ella se produz mais rapida e nitida que no meio de Rothberger e suas modificações, desde que se tenha em vista a producção da fluorescencia em particular. Prepara-se o meio do seguinte modo:

| | |
|---|---|
| Peptona | 30 grs. |
| Agua | 1.000 c. c. |
| NaCl | 5 grs. |

Dissolver a quente, acertar o pH a 7,4. Ajuntar a solução aquosa de vermelho neutro Gruebler a 1 %. 20 cc. Distribuir em tubos de ensaio de vidro neutro. Cobrir com vaselina solida neutra e esterilisar a 110°, durante meia hora.

Este meio permittiu uma differenciação muito rapida e nitida como se poderá vêr examinando o quadro 7.

**Quadro 7**

Acção sobre vermelho neutro em anaerobiose, sob camada de vaselina.

| Typo | Germens | 1 d. | 2 ds. | 3 ds. | 4 ds. | 10 ds. |
|---|---|---|---|---|---|---|
| *Pullorum*, não gazogeno | P 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | G 39 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Pullorum*, gazogeno | P 3 | 0 | F 1 | F 2 | F 4 | F 4 |
| | P 5 | 0 | F 3 | F 3 | F 4 | F 4 |
| | P 10 | 0 | F 1 | F 2 | F 3 | F 3 |
| | P 12 | 0 | F 2 | F 3 | F 3 | F 3 |
| | P 18 | 0 | F 1 | F 2 | F 3 | F 3 |
| | P 22 | 0 | F 1 | F 2 | F 4 | F 4 |
| *Intermedius* | P 7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | P 14 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | P 21 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | P 24 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | P 27 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Gallinarum* | G 27 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | G 30 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | G 32 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | G 34 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | G 36 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Gallinarum* gazogeno ? | P 28 | 0 | F | F | F | F |

*Notações* — F, fluorescencia; os numeros indicam intensidade de reacção.

Apresentaram fluorescencia mais ou menos rapida todas as amostras *pullorum* gazogenas e mais a amostra P 28. Da banda não fluorescente ficaram as amostras de *pullorum* não gazogeno, P 1 e G 39, americana e brasileira, as amostras recebidas como *gallinarum*, e as amostras recebidas da Europa como *pullorum*, por nós incluidas no typo a que denominamos *intermedius*.

Estes resultados foram absolutamente constantes durante todo o tempo em que foram as amostras acompanhadas.

3) *Producção do gaz sulphydrico.* - Essa propriedade tem sido quasi sempre encontrada positiva pelos pesquisadores. É uma das mais estudadas nesses germens, como se vê compulsando os trabalhos de Truche 1923, Plasaj 1930, Pfeiler & Standfuss 1919, Pfeiler & Hoepke 1917, Mulsow 1919, Kaup & Dearstyne, 1925, Hadley 1919, Donatien, 1924, Beck & Eber 1927 e 1929, Klimmer & Haupt 1927, Spray & Doyle 1921, Konno 1929, Cilli 1932, Guenther 1933, trabalhando com *S. gallinarum* sómente, ou tambem com *pullorum*. Não ha duvidas em serem todas sulfurigenas, variando apenas a intensidade de producção.

Truche achou maior quantidade de $H^2S$ na *S. gallinarum*; Klimmer & Haupt conferem predominancia na producção aos *pullorum*. Em 7 amostras de seu typo I, por elles achado com propriedades intermediarias entre *pullorum* e *gallinarum*, 1 eram sulfurigenas. Este achado está de accôrdo com o typo intermediario descripto por Beck & Eber, amostras Kü IV e Ovar IV de Beller, que se mostraram sulferigenas em suas mãos e não sulfurigenas nas de Beller.

Truche (1929), não conseguiu demonstrar a presença de $H^2S$ nas culturas de *pullorum*. Tambem Rochaix & Couture encontram fraca ou nulla producção com amostras classificadas como *pullorum*, confirmando assim as verificações de Vaccaro. Tittsler (1931) procura explicar alguns resultados discordantes como os de Malmann (1925), pela influencia da temperatura das experiencias. Verifica elle que temperaturas acima de 34° são impedientes á producção de $H^2S$, attingindo este effeito o maximo em 44°. Aconselha para a prova, temperaturas entre 30° C. á 34 C. e verifica, desta maneira, uma estreita correlação entre a producção de $H^2S$ e a de outros gazes.

Na pesquisa desse corpo usamos inicialmente a gelatina e o meio de Bailey-Lacy. Este encontra-se detalhadamente descripto no trabalho de Klimmer & Haupt. Eis os resultados nos quadros 8 e 9.

**Quadro 8**

Formação de gaz sulfhydrico em gelatina.

| Amostras | Meio de cultura | |
|---|---|---|
| | escurecido | inalterado |
| *Pullorum* não gazogeno | 2 | 0 |
| *Pullorum* gazogeno | 17 | 0 |
| *Intermedius* | 2 | 6 |
| *Gallinarum* | 10 | 1 |
| *Gallinarum* gazogeno ? | 1 | 0 |

NOTA — Os numeros indicam numero de amostras utilisadas na prova.

Neste meio (Bailey-Lacy) revelaram as amostras *gallinarum* leve poder sulfurigeno; *pullorum*, gazogeno e não gazogeno mostraram-se fortes productores de $H^2S$; o *intermedius* não produziu este gaz no meio e no tempo referidos.

**Quadro 9**

Producção de $H^2S$ no meio de Baley-Lacy

| Amostras | 1 d. | 2 ds. | 3 ds. | 5 ds. |
|---|---|---|---|---|
| *Pullorum* não gazogeno | | | | |
| P 1 | 0 | 0 | n | n |
| G 39 | 0 | 0 | 0 | n |
| *Pullorum* gazogeno | | | | |
| P 3, P 11 | 0 | 0 | n | n |
| P 5, P 10, P 2, P 22 | 0 | n | n | n |
| P 18 | 0 | 0 | 0 | n |
| *Intermedius* | | | | |
| P 7, P 14, P 24, P 27, P 20 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Gallinarum* | | | | |
| G 30, G 31, G 32 | 0 | 0 | 0 | ± n |
| G 33 | 0 | 0 | 0 | n |
| CONTRAPROVAS | | | | |
| Meio não semeado | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Salmonella schottmülleri* (*B. paratif.* B) | | | | |
| N°. 690 | 0 | n | n | n |
| *Salmonella* (*Eberthella*) *typhosa* | | | | |
| N°. 895 | 0 | 0 | 0 | 0 |

*Notações* — n, ennegrecimento; 0, inalterado.

Parecendo ser util esta propriedade na differenciação, procuramos estudal-a mais detelhadamente.

Na pesquiza do $H^2S$ usamos o meio proposto por Pacheco & Mello, inicialmente pela simples juncção do bismutho ao agar commum, sendo os resultados vistos no Graphico 1. Posteriormente seguimos exactamente na technica da preparação as indicações aconselhados por aquelles autores, isto é, agar semisolido tendo carbonato de bismutho como indicador. Experimentamo-lo tal qual ou ajutando-lhe cystina, como fonte de enxofre de clivagem facil, util segundo verificações de Tilley.

Compõe-se o meio de Pacheco & Mello:

Agua distillada, 100 cc.; Peptona Witte, 3 grs.; Agar-agar, 0,5 grs.; NaCl, 0,5 grs.; Carbonato de bismutho (Riedel), 0.5 grs.

Deve-se agitar o meio antes da solidificação, depois de autoclavado, para distribuição uniforme do indicador. Para cystinar o meio addicionava-se-lhe 0,01 % de cystina.

Pesquizamos ainda o $H^2S$ em agar commum, com acetato de chumbo a 0,5 %; em papa de cerebro em anaerobiose; e na « Bacto-peptone iron agar » da Difco Laboratories de Detroit, U. S. A.

No graphico 1 comparam-se o bismutho e o chumbo como indicadores da propriedade sulfurigena das amostras experimentadas.

Exhibimos, no graphico 2, a leitura no meio de Pacheco & Mello, com e sem cystina.

O agar peptona-ferro, « Bactopeptone iron agar » da Difco Laboratorios, é preparado do seguinte modo, segundo aconselha Dunham:

| | |
|---|---|
| Agua destillada a 100° | 1.000 cc. |
| « Iron peptone » | 36 grs. |

Esterilisar a 15 libras durante 15 minutos. pH final mais ou menos 6,7.

Inadvertidamente juntamos a essa formula 1 % de agar, mas não acreditamos que tivesse maior influencia sobre a sensibilidade do meio.

Os resultados obtidos concordam com os conseguidos no agar chumbo, differindo apenas nas amostras de *intermedius*, que não produziram aqui quantidade apreciavel de $H^2S$, em observação prolongada por 30 dias.

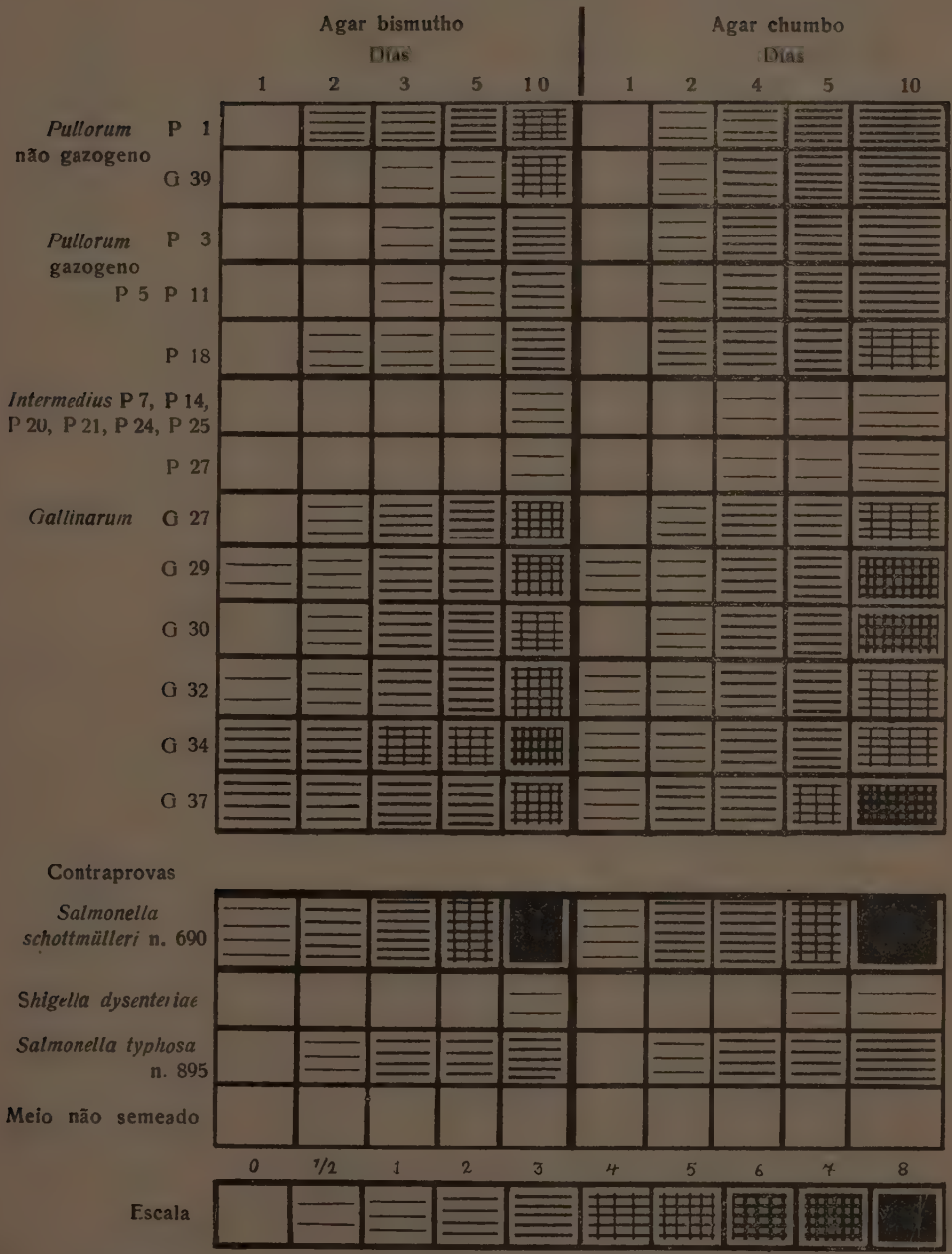
Em conjuncto, a pesquiza do hydrogenio sulfurado forneceu elementos para se concluir:

1) *pullorum*, gazogeno ou não gazogeno, produzem em curto tempo $H^2S$ no agar chumbo, no meio de Bailey-Lacy, na gelatina e na « Bacto-peptone iron agar » da Difco Laboratories. No meio de Pacheco & Mello, mesmo mediante junção de cystina, a quantidade de $H^2S$ produzida é quasi sempre imperceptivel. Raramente gera pequenas quantidades e nestes raros casos elle é lentamente produzido.

2) *gallinarum* produz abundante $H^2S$ em meio de Pacheco & Mello, mais rapida no cystinado; a sua capacidade sulfurigena é tambem presente no agar chumbo e na « Bacto peptone iron agar ». Producção lenta na gelatina e no meio de Bailey-Lacy.

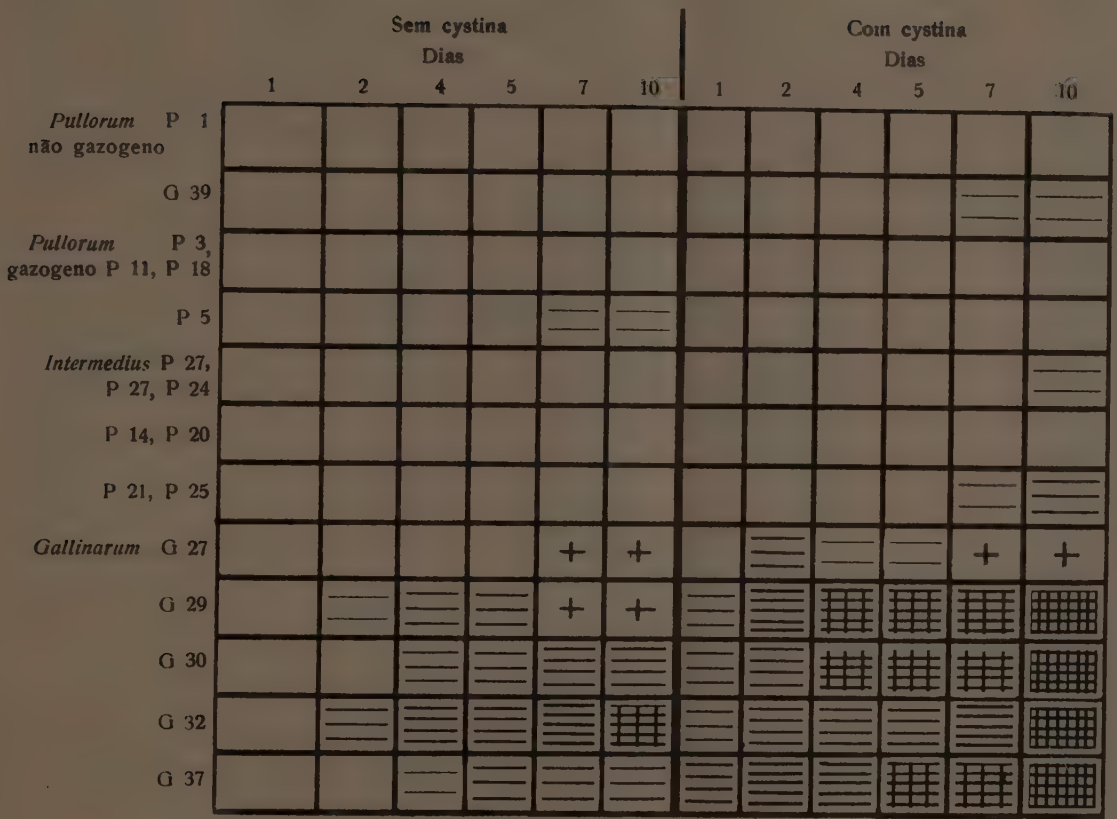
3) o typo *intermedius* produz pouco $H^2S$, esboçando apenas um escurecimento, lentamente apparecido no agar chumbo e não alterando o meio de Bailey-Lacy, o meio de Pacheco & Mello, cystinado ou não, a « Bacto peptone iron agar », e a gelatina.

Graphico 1

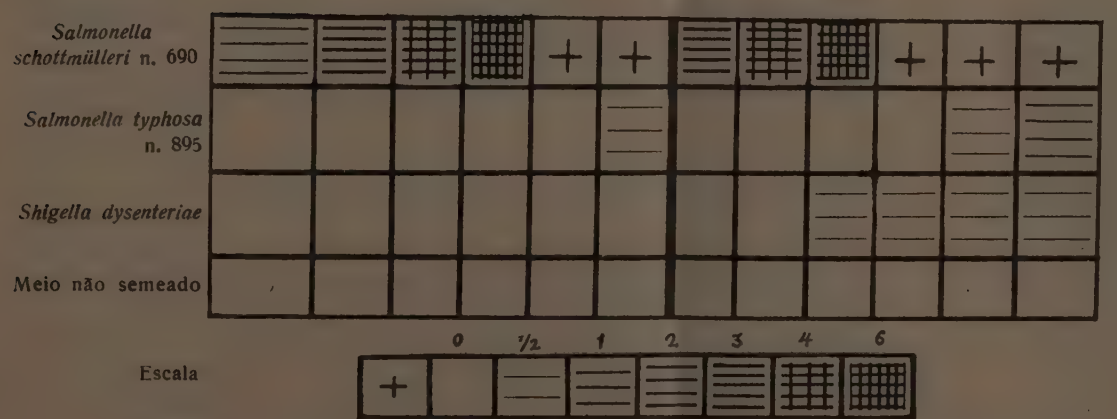



*Notações* — $^1/_2$ = traços, 1-8 graus de escurecimento do meio.

Graphico 2




Contraprovas




*Notações* — ½ traços, 1-8 graus de escurecimento do meio, + resultado não annotado.

O quadro 10 resume esses resultados. A amostra P 28, *gallinarum* gazogeno, foi omittida nestas provas.

**Quadro 10**

Producção de $H^2S$ nos differentes meios utilizados para a prova.

| Meios de cultura | *Pullorum* | | *intermedius* | *Gallinarum* |
|---|---|---|---|---|
| | gazogeno | não gazogeno | | |
| Agar chumbo | + rapido | + rapido | + lento | + rapido |
| Pacheco & Mello com cystina | — | — | + lento | + muito rapido |
| Pacheco & Mello sem cystina | — | — | — | + rapido |
| Bayley - Lacy | + rapido | + rapido | — | + lento |
| Gelatina | + rapido | + rapido | + lento ? | + lento |
| Polpa de cerebro | — | — | — | — |
| "Iron peptone" agar | + rapido | + rapido | — | + rapido |

Na papa de cerebro, coberta de vaselina, não observamos escurecimento por nenhuma das amostras estudadas.

Uma particularidade deve ser resaltada a respeito da propriedade sulfurigena nestes germens. É a sua dependencia do meio de prova utilisado, segundo o qual podem-se chegar a inverter os resultados. Excluido o meio bismuthado, que só ultimamente foi utilisado, houve nos outros meios constantemente o mesmo modo de actuarem. A par dessa fixidez de actividade, elles revelaram no ensaio da propriedade sulfurigena elementos significativos para sua differenciação. É possivel que tambem a temperatura tenha influencia no escurecimento; todas as nossas provas foram feitas a 37°. Não podemos, entretanto, acceitar a opinião de Tittsler sobre correlação entre a producção de outros gazes e a de $H^2S$.

4) *Reducção dos nitratos a nitritos.* — Só uma vez tentamos essa prova. Levamol-a a effeito no inicio do nosso estudo, em meio agua de peptona nitratada e fazendo a prova indicadora da transformação a custa da naphtilamina e mais acido sulfanilico. Das trinta e oito amostras, mais de 50 % tranformaram nitratos em nitritos. As amostras reductoras dos nitratos distribuiram-se nos differentes grupos que vimos estudando, tornando a prova inapta a uma applicação na fixação dos caracteres bacterianos. Tittsler, em 1930, não poude tambem distinguir

com ella *pullorum* de *gallinarum*, pois varias amostras de uns e de outros transformavam os nitratos e outras eram inactivas sobre elles. Kaupp & Dearstyne dão *gallinarum* como reductor, enquanto Rettger diz que o *pullorum* não gosa desta propriedade.

5) *Acção proteolitica.* — Constantes se revelaram as amostras dos differentes typos na sua acção sobre a gelatina, na qual vegetam bem sem provocar fusão. Essa verificação, aliás, não discorda do consenso geral das pesquizadores que se teem occupado do assumpto, todos accordes em dar o meio inalterado por essas bacterias.

6) *Fermentação dos assucares.* — Apezar de certo exagero na avaliação das provas fermentativas sobre assucares como elementos na systematica bacteriana, é incontestavel seu valor na caracterisação de muitas especies, não raro até, as mais valiosas de todas. Em certos generos bacterianos, onde a capacidade antigenica e outras propriedades são incapazes de precisar differenciação, a fermentação de assucares é a base da systematica, a prova que decide.

Foi o que se deu até certa época tambem com os germens desse grupo. Á custa della estabeleceu Moore, pela primeira vez em 1895, a distincção entre *gallinarum* e o agente da cholera aviaria.

Além da fermentação, a presença de gaz assumiu importancia na systematica do grupo *pullorum-gallinarum*. Rettger descreve inicialmente o *pullorum* como gazogeno. Mais tarde, com Kirpatrick & Jones (1913), verifica a existencia de amostras não gazogenas em presença de qualquer assucar. São essas, na litteratura a nosso alcance as mais antigas referencias de *pullorum* não gazogeno.

Os primeiros a apontar a fermentação da maltose para separar *pullorum* de *gallinarum* foram Smith & Ten Broeck, em 1915. Assentam elles, nesse trabalho, que *gallinarum (sanguinarum)*, fermenta rapidamente a maltose, ao passo que *pullorum* o faz tambem, mas com muito vagar; ao mesmo tempo fazem referencias á labilidade da producção de gaz de *pullorum*, da qual encontraram amostras, a principio gazogenas, tornadas não gazogenas expontaneamente, quando revistas mais tarde.

Em 1917 Rettger & Koser procuram analysar em minucias a differenciiação entre *pullorum* e *gallinarum* na sua acção fermentativa sobre varios assucares; estudam a maltose, dulcita e dextrina, todos atacados pelas amostras *gallinarum* e não alterados por amostras *pullorum*. Permittiu-lhes esta constancia da propriedade fermentativa da maltose

o emprego da prova do vermelho de methyla, proposta por Clark & Lubs para differenciação de bacterias dos gêneros *Escherichia (coli)* e *aerobacter (aerogenes)*. Nitida differença apresentam as amostras *pullorum*, alcalinisantes desse meio, tornando-o amarello, ao passo que as *gallinarum* francamente o acidificam, envermelhecendo-o. Dados importantes addusem ainda Rettger & Koser neste trabalho para differenciar *gallinarum* do *pullorum*, na questão do gaz. Estudam amostras *pullorum* recentemente isoladas, ao lado de outras cultivadas até 12 annos em laboratorio, em provas de fermentação em tubos Durham; todas ellas são francamente gazogenas. Excepttuou-se uma amostra, de recente isolamento, não gazogena, mas em tudo mais identica ás suas companheiras *pullorum*. Não obstante acham ser o caracter gazogenico elemento de primeira ordem na differenciação do grupo *pullorum-gallinarum*, inherente aos *pullorum*, em geral, e unicamente a elles. Goldberg confirma, nesse mesmo anno, os dados de Rettger quanto á gazogenía e sua constancia no tempo, e só depara com uma amostra *pullorum* não gazogena, amostra esta um tanto irregular nas suas propriedades. Ainda nesse mesmo anno dois trabalhos apparecem, contando provas de fermentação. O de Pfeiler, que accrescenta aos assucares atacados pelo *gallinarum*, já conhecidos, a xylose e a rhamnose, e não atacados, a sorbita; e o de Krumwiede & Cohn que estabelecem a fermentação fracamente positiva da xylose pelo grupo *pullorum-gallinarum*, sendo a rhamnose atacada com mais energia pelos *pullorum*.

Foram Hadley, Elkins & Caldwell quem, em 1918, distinguiram com segurança dois typos *pullorum* já entrevistos por outros pesquizadores: A, gazogeno, dotado de acção pathogenica só para pintos e B, não gazogeno, capaz de infectar pintos e gallinhas.

Não houve dahi por deante nenhuma relutancia na acceitação desses dois typos fermentativos, baseados na constancia e na immutabilidade dos seus caracteres, mas a sua especificidade pathogenica foi contestada por St. John Brooks & Rhodes em 1923, e por Beaudette em 1925. Os primeiros isolam o typo A, gazogeno, em gallinha adulta e Beaudette encontra o B, não gazogeno, em gemma residual de pinto.

Muitas discussões tem suscitado o assumpto. Gage affirma em 1911 serem gazogenicas todas as amostras provenientes de pintos ou de ovos. Doyle acha exacta, de uma maneira geral, a affirmação de Hadley, Elkins & Caldwell, comportando a regra frequentes excepções. São contradictorias as observações de Edington, publicadas em 1924. Em 3 epizootias de pintos isola elle amostras de *pullorum*, não gazogenas, mas que se tornavam gazogenas com o tempo: era a transformação expontanea do typo B em A. Transformação semelhante do typo B em A,

obteve Doyle anteriormente, em 1921, mediante inoculação em pintos sãos e recuperando destes a bacteria, transmutada. Convem salientar a possibilidade de erro na experiencia deste pesquisador. Seria aconselhavel repetirem-se as passagens em meios de cultura, como que para revigoral-a, antes de se dar uma amostra *pullorum* como não gazogena. É possivel que a omissão d'esse revigoramento tenha falseado o resultado de Doyle, isto é, que a passagem em animal não tenha tido outra acção senão esta.

Encontram-se tambem referencias favoraveis á asserções de Hadley e collaboradores no trabalho de Miessner & Berge, de 1928. Estes isolam de pintos novos, até a 2.ª semana de vida, amostras de *pullorum* gazogenas, e dos pintos maiores desta edade, amostras não gazogenas.

Não foi dada ainda a ultima palavra sobre a relação entre a producção de gaz e a pathogenia do *pullorum*.

Quanto á capacidade gazogena em si, tambem não ha accôrdo unanime de opiniões. De um lado Hadley e collaboradores acham-n'a immutavel, o que lhes faculta crear os typos A e B, gazogeno e não gazogeno, escorados em suas proprias experiencias e nas de Rettger & Koser, de Goldberg e de Rebrassier em 1926; de outro lado estão Smith, Ten Broeck, Edington, além de outros, que toparam todos com transformação de um typo em outro, a custa de provas repetidas ou de artificios de cultura. St. John Brooks & Rhodes sustentam não ser a producção de gaz prova valiosa na caracterização do *pullorum*, tão fallivel é ella. Beller afina no mesmo diapassão, segundo Gressel. Apenas 50 % dos *pullorum* por este estudadas, dão gaz na glycose, um ou outro fermenta a maltose, tendo Gressel observado tambem a perda da propriedade gazogena em varias de suas amostras.

—— • ——

No capitulo da fermentação dos assucares pelo *pullorum* defronta-se outro ponto obscuro: é na acção sobre a maltose. Vimos como foi primeiro admittida a incapacidade dos typos *pullorum* de fermentar este assucar, que chegou a servir de caracter differencial. No entanto, nem todos os pesquizadores estão de accôrdo sobre esta incapacidade fermentativa, possivel de ser perdida ou adquirida no correr do tempo, segundo alguns. Mulsow foi o primeiro a chamar attenção para irregularidades na fermentação da maltose por amostras *pullorum* e *gallinarum*, invalidando idéas assentadas e tidas até ali como verdadeiras. Entre amostras *pullorum* por elle estudadas houve algumas fermentadoras da maltose; entre amostras de *gallinarum* observou tambem algumas que só fermen-

tavam lentamente esse assucar. Mas o que maiores confusões acarretou foi a supposta capacidade potencial do *pullorum* em fermentar a maltose, demonstrada nas experiencias de Spray & Doyle, de 1921, confirmadas por Hendrickson em 1927. Verificaram elles que as amostras *pullorum*, incapazes de fermentar esse assucar nos meios communs de fermentação maltosados, tornavam-se fermentadoras, uma vez que se addicionasse sôro ao meio assucarado. E ainda mais, viram amostras *pullorum* gazogenas chegarem a produzir gaz nestas condições e que, dextrina e dulcita, ordinariamente não atacadas por essas bacterias, assim se conservavam nos meios com sôro. No minucioso estudo comparativo de amostras *gallinarum-pullorum*, abrangendo amostras americanas e europeas, publicado em 1927, May & Goodner assignalam a existencia de algumas amostras *pullorum* dotadas de capacidade fermentadora da maltose e da dextrina: acreditam elles ser devida esta anomalia a um prévio desdobramento da maltose na autoclavagem, e a impurezas da dextrina. Accrescentam que amostras recentemente isoladas se mostram mais irregulares que as antigas, neste particular. Concordam Manninger e Mallmann com a opinião de May & Goodner, ao discutirem, em 1928, o mesmo phenomeno observado com suas amostras, tanto mais quanto Mallmann não mais observou a fermentação da maltose ao provar a fermentação dos *pullorum* em liquido maltosado, esterilisado por filtração em véla. Mesmo assim acha elle improprio este assucar, bem como dextrina e dulcita, para a differenciação, tão frequentes são encontradas amostras *pullorum* fermentadoras desses assucares.

Novos detalhes são trazidos por Edwards nesse mesmo anno, ao verificar soffrer a maltose, sob acção das substancias alcalinas, produzidas pela vegetação da *S. pullorum* e do calor da estufa, desdobramento em glycose, assucar fermentecivel pelo *pullorum*. Impedida a alcalinisação do meio, não mais se observa a fermentação da maltose pelas amostras que anteriormente o faziam.

— • —

Outros assucares foram estudados com a intenção de serem applicados na distincção de *pullorum* e *gallinarum*, havendo, é verdade, divergencias entre os pesquizadores. Cernaianu e Popovici, 1930, consideram como caracter differencial a acção sobre a arabinose, que é rapida no *pullorum* não gazogeno e lenta no *pullorum* gazogeno. Esta observação é contrariada por Vaccaro, 1932.

Pode-se ver pelo quadro n. 11, abrangendo todos os trabalhos por nós compulsados, essas divergencias. Neste quadro não figuram os re-

**Quadro 11**

Fermentação dos assucares segundo varios pesquisadores.

| Amostras | Glycose | Galactose | Rhamnose | Mannita | Saccharose | Dextrina | Dulcita | Levulose | Mannose | Xylose | Arabinose | Maltose | Lactose | Raffinose | Sorbita |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Pullorum* não gazogeno | | | | | | | | | | | | | | | |
| May & Goodner 1927 | + | + | + | + | − | − | − | + | + | + | + | − | − | − | |
| Rebrassier 1926 | + | + | + | + | − | | − | + | + | + | + | − | − | − | − |
| *Pullorum* gazogeno | | | | | | | | | | | | | | | |
| Beaudette, Bushnell & Payne 1923 | g | g | + | g | − | − | ± | g | g | g | g | ± | − | − | |
| Mulsow 1919 | g | 0 | g | | | ± | − | | | g | g | − | | | g |
| May & Goodner 1927 | g | g | g | g | − | − | − | g | g | g | g | − | − | − | |
| Manninger 1928 | g | + | g | + | − | ± | + | + | g | g | g | + | − | | |
| Beck & Eber 1927 | g | | g | g | − | − | − | | | | g | − | − | | |
| Klimmer & Haupt 1927 | g | | | | − | − | − | | | | | − | − | | |
| Rettger & Koser 1917 | g | g | | g | − | − | − | g | | | | − | − | − | |
| Doyle 1925 | g | g | | g | − | − | | g | | | | − | − | | |
| Goldberg 1917 | g | g | | g | − | − | − | g | g | − | g | − | − | | |
| Gressel 1928 | g | | | g | − | | ± | | | | g | ± | | − | − |
| Kraus 1919 | g | g | | g | − | | | g | | − | | − | − | − | − |
| *Intermedius* | | | | | | | | | | | | | | | |
| May & Goodner 1927 | + | + | + | + | − | + | + | + | + | − | + | + | − | − | |
| Beck & Eber 1927 | + | + | + | + | − | − | + | | + | + | ± | + | − | − | − |
| Klimmer & Haupt 1927 | + | | | | − | − | + | | | | | ± | − | | |
| *Gallinarum* | | | | | | | | | | | | | | | |
| Beaudette 1925 | + | + | + | + | − | − | + | + | + | − | + | + | − | − | − |
| Pfeiler 1921 | + | + | + | + | − | − | + | | + | + | − | + | − | − | − |
| Mulsow 1919 | + | | + | | | + | + | | | + | + | + | | | ± |
| May & Goodner 1927 | + | + | + | + | − | + | + | + | + | + | + | + | − | − | |
| Manninger 1928 | + | + | + | + | − | ± | + | + | + | + | + | + | − | | |
| Ehrlich 1925 | + | + | − | + | − | | ± | | | | + | | − | − | |
| Pfeiler & Hoepke 1917 | + | + | + | − | − | | − | + | + | + | − | + | − | − | − |
| Beck & Eber 1927 | + | | + | + | − | + | + | | | | + | + | − | | |
| Rettger & Koser 1917 | + | + | | + | − | + | + | + | | | | + | − | − | |
| Goldberg 1917 | + | + | | + | − | + | + | + | + | + | + | + | − | − | |
| Gressel 1928 | + | | | + | − | + | + | | | ± | + | + | − | − | − |
| Klimmer & Haupt 1927 | + | | | | − | + | + | | | | | + | − | | |

*Notações* — +, fermentação sem gaz; g, fermentação com gaz; -, não fermentado; ±, fermentação fraca.

sultados de Lerche, impossiveis de tabular ali. Lerche, partindo de germens isolados de pinto e de ovo, estuda 161 amostras, tendo obtido resultados tão variaveis em provas biochimicas, que desalenta a possibilidade de uma seperação segura dos typos com essas provas; atem-se elle somente á producção de gaz, como a mais valiosa de todas, não admittindo como significativas a fermentação da dulcita, maltose e dextrina.

Além destes, ha nos trabalhos de que retiramos os dados do quadro 13, referencias a outros assucares, menos experimentados ordinariamente.

Englobando o exame da litteratura, infere-se quanto á fermentação dos assucares, ser o grupo *pullorum-gallinarum* dotado de capacidade fermentativa sobre a glycose, galactose, manita, manose, levulose, arabinose, rhamnose; a fermentação é acompanhada de producção de gaz pelo *pullorum* chamado gazogeno, com certos assucares. Não são fermentados lactose, saccharose, raffinose, salicina, inulina, amido, erythrita, adonita. Seriam fermentados pelo *gallinarum*, segundo a maioria, mais a maltose, a dulcita e a dextrina, assucares estes geralmente não alterados pelo *pullorum*.

Curiosa é a referencia, encontrada em quasi todos os trabalhos dessa epocha para cá, a typos « anomalos », exactamente aquelles que ora descrevemos como *intermedius*. Lá estão no trabalho de May & Goodner duas amostras *gallinarum* incapazes de fermentar a xylose, assucar decomposto por todas as amostras *pullorum* e *gallinarum*. Beck & Eber chegam a denominar intermediario, « Uebergang », as duas amostras dentre outras por nós denominadas *intermédius*, Kücken IV e Ovar IV, que apresentam caracteres communs ás especies *pullorum* e *gallinarum*, e cuja frequencia não puderam precisar. Essas duas amostras eram, conforme referem, inicialmente gazogenas, ao actuar sobre varios assucares, mas perderam a propriedade nas repicagens seguintes.

Klimmer & Haupt estudam em 1927 duas epizootias em pintos, e conseguem isolar dois typos de germens crescendo com diverso aspecto no meio de Gassner, referido paginas atraz. Um dos typos possuia caracteres do *pullorum* gazogeno de Rettger, si bem que nas primeiras repicagens não produzisse gaz. O outro permaneceu não gerador de gaz, e com o decorrer do tempo foi-se apresentando capaz de fermentar a maltose, lentamente de começo, rapidamente depois.

Das 8 amostras desse grupo, por elles estudadas, 6 já se tornavam fermentadoras na 4.ª passagem ou repique em meio de cultura de laboratorio. Pode-se juxtapor este typo ao intermediario de Beck & Eber, com a differença apenas, da sua capacidade latente em fermentar a

maltose. Klimmer & Haupt o approximam do *gallinarum*, mas não o identificam a elle.

Analogas são as verificações de Gressel em 1928, a respeito desse typo, encontrado e considerado por elle como *pullorum* atypico.

Rochaix & Couture, finalmente, em 1933, observam amostras *pullorum*, não gazogenas, pouco ou nada sulfurigenas, não fermentadoras da xylose, caracteres que os approximam do nosso typo *intermedius*, como veremos.

— • —

Para estudo da fermentação de assucares usamos o meio de cultura que desde muito vimos empregando para levar a effeito essas provas. É um meio semisolido composto assim:

| | |
|---|---|
| Agua | 100 cc. |
| Nutrose | 1 gr. |
| Peptona | 2 grs. |
| NaCl | 0,5 grs. |
| Agar-Agar | 1 gr. |

A este meio addiciona-se o assucar e indicador Andrade, ambos na proporção de 1 %. Julga-se a acidez pelo envermelhecimento do meio, e pela precipitação da nutrose, quando a acidez é muito intensa, proxima de pH 5,0: a alcalinidade é percebida pelo desapparecimento do tom roseo do meio.

Segundo nossas observações, recentemente referendadas por Spray, o meio se presta bem á vegetação da maioria das bacterias.

Em Setembro de 1930 fizemos a nossa primeira prova de fermentação de assucares, lendo os resultados com 1 dia até 20 dias de cultura a 37°.

Nesta serie os assucares, da Fabrica Pfahnstiehl, foram esterilisados, juntamente com o meio a 108°, durante meia hora. Nas provas seguintes modificamos a technica, esterilisando o assucar separado, por aquecimentos descontinuos a 60° durante 30 minutos, repetidas vezes, ou por meio de filtração em véla préviamente esterilisada em autoclave, segundo os conselhos de Mallmann, acima citado. Talvez sejam devidas a isso pequenas discordancias entre os resultados observados, inicial e posteriormente. Possivelmente outro factor tenha influido nessas discrepancias. Nem sempre foi possivel empregar assucares da mesma fabricação (Pfahnstiehl) nas provas subsequentes, utilisando, então, os de fabricação Merck ou Schering (quadro 12).

Interessantes se nos afiguraram os resultados da fermentação da xylose, e principalmente da sorbita. Menos interessante, embora significativa para a differenciação, nos pareceu a acção sobre a inulina e a rhamnose. Com effeito, a sorbita não foi alterada por nenhuma das amostras *gallinarum* não gazogeno e foi fermentada por todas as amostras dos 4 outros typos. A xylose separou muito bem o typo *intermedius*, que não foi capaz de alteral-a, a não ser a amostra P 25, mesmo assim muito lentamente.

As amostras *gallinarum* acidificaram, de modo passageiro, a inulina, em tempo mais curto no emtanto que os outros typos: a rhamnose foi atacada mais devagar pelas amostras *intermedius* e *gallinarum*, e rapidamente pelas *pullorum*.

Todas as amostras de todos os typos foram fermentadoras da glycerina, sobre cuja fermentação não ha accôrdo na litteratura. Ataque geral soffreram tambem a mannose, mannita, galactose, levulose, arabinose e glycose. Não foram fermentadas inosita, salicina, raffinose, dextrina e saccharose.

Quanto á dulcita e maltose, a sua fermentação mostrou-se nitidamente separativa dos differentes typos. Assim, a dulcita não foi alterada por nenhuma amostra *pullorum*, gazogena e não gazogena, e foi rapidamente atacada pelos outros typos. O mesmo pode-se dizer da maltose, separando esta tambem o *intermedius* do *gallinarum*, porque este fermentou-a rapidamente, e aquelle, em geral, o fez com mais lentidão, levando até 15 dias para fazel-o.

Para apurar bem o resultado com a maltose, sorbita, dulcita e inulina, principalmente com o *intermedius*, repetimos as provas nestes assucares com todas as amostras, decalcando-se quasi, com os anteriores, os resultados ora obtidos, com ligeiras differenças de um ou dois dias no apparecimento das fermentações demoradas. Nessa segunda experiencia foi incluida tambem a prova do vermelho de methyla, proposta por Rettger, como vimos. Houve estreita relação entre esta prova e a da fermentação da maltose, que entra na composição do meio, como se sabe. Ademais, ella falha nos fermentadores lentos da maltose, pesquizada como é antes que se manifeste o ataque ao assucar por este typo. Mais razoavel seria então realisar a prova substituindo a maltose pela dulcita, quando ha interesse em abranger o typo *intermedius*.

**Quadro 12**

Fermentação dos assucares, vista em 25 - 9 - 1930.

| Amostras | Mannose A | Mannose G | Glycerina A | Mannita A | Mannita G | Inosita N | Xylose A | Xylose K | Rhamnose A | Rhamnose G | Rhamnose K | Dulcita A | Dulcita N | Sorbita A | Sorbita K | Salicina N | Maltose A | Maltose N | Galactose A | Galactose G | Inulina A | Inulina K | Raffinose A | Raffinose N | Levulose A | Levulose G | Arabinose A | Arabinose G | Dextrina A | Dextrina N | Glycose A | Glycose G | Lactose N | Sacharose N |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Pullorum* não gazogeno | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| P 1 | ++ | | ++ | ++ | | - | 1d | | 1d | | | - | - | 5d | 15d | - | | - | + | | 5d | 10d | - | - | ++ | | ++ | | - | - | ++ | | - | - |
| G 39 | | | | | | | 5d | | 1d | | | | | 15d | | | | | | | 5d | 10d | | | | | | | | | | | | |
| P 2 | ++ | | ++ | ++ | + | - | 2d | | 1d | | | - | - | 5d | | - | | - | + | | 2d | 10d | - | - | ++ | | ++ | | - | - | ++ | | - | - |
| P 3 | | | | | | | 2d | | 1d | | | | | 5d | | | | | | | 2d | 10d | | | | | | | | | | | | |
| P 4 | | | | | | | 1d | 15d | 1d | + | + | | | 5d | | | | | | | 2d | 5d | | | | | | | | | | | | |
| P 5 | | | | | | | 2d | 20d | 1d | | | | | 5d | | | | | | | 1d | 3d | | | | | | | | | | | | |
| P 6 | | | | | | | 2d | | 1d | + | + | | | | | | | | | | | - | | | | | | | | | | | | |
| P 8 | | | | | | | 1d | | 1d | | | | | | | | | | | | 1d | 10d | | | | | | | | | | | | |
| P 9 | | | | | | | 2d | | 1d | | | | | 5d | 15d | - | | - | + | | | - | | | | | | | | | | | | |
| P 10 | | | | | | | 5d | | 2d | | | | | | | | | | | | | - | | | | | | | | | | | | |
| P 11 | | | | | | | 1d | | 1d | + | + | | | 5d | 15d | - | | - | + | | 1d | 10d | - | - | + | | + | | - | - | + | | - | - |
| P 12 | | | | | | | 1d | 10d | 1d | | | | | 5d | 20d | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| P 13 | | | | | | | 1d | 10d | 1d | + | + | | | | | | | | | | | - | | | | | | | | | | | | |
| P 15 | | | | | | | 1d | | 1d | | | | | 5d | 20d | | | | | | 5d | 10d | | | | | | | | | | | | |
| P 16 | | | | | | | 1d | | 1d | | | | | 5d | 15d | - | | - | + | | 3d | 5d | - | - | + | | + | | - | - | + | | - | - |
| P 17 | | | | | | | 1d | | 1d | | | | | 5d | | | | | | | 1d | 10d | | | | | | | | | | | | |
| P 18 | | | | | | | 2d | | 1d | + | + | | | 5d | 15d | - | | - | + | | 2d | 5d | - | - | + | | + | | - | - | + | | - | - |
| P 19 | | | | | | | 2d | | 1d | | | | | 5d | 10d | | | | | | 2d | 10d | | | | | | | | | | | | |
| P 22 | | | | | | | 3d | | 1d | | | | | | | | | | | | 1d | 15d | | | | | | | | | | | | |
| *Interm.* | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| P 7 | ++ | | ++ | ++ | | - | | | 3d | | | 1d | - | 5d | | - | 2d | - | + | | 1d | 10d | - | - | ++ | | ++ | | - | - | ++ | | - | - |
| P 14 | | | | | | | | | 2d | | | 1d | | 5d | | | 10d | | | | 13d | 15d | | | | | | | | | | | | |
| P 20 | | | | | | | | | 3d | | | 1d | | 5d | | | 1d | | | | 10d | 15d | | | | | | | | | | | | |
| P 21 | | | | | | | | | 3d | | | 1d | | 3d | 15d | - | 2d | - | + | | 1d | 15d | - | - | + | | + | | - | - | + | | - | - |
| P 24 | | | | | | | | | 3d | | | 1d | | 5d | 15d | | 10d | | | | 1d | 3d | | | | | | | | | | | | |
| P 25 | | | | | | | 15d | | 3d | | | 1d | | 5d | 15d | - | 1d | - | + | | 1d | 5d | - | - | + | | + | | - | - | + | | - | - |
| P 26 | | | | | | | | | 3d | | | 1d | | 5d | | | 15d | | | | 1d | 5d | | | | | | | | | | | | |
| P 27 | | | | | | | | | 3d | | | 1d | | 10d | | | 10d | | | | 1d | | | | | | | | | | | | | |

| | | |

Repetimos as provas de fermentação a intervallos irregulares neste e no decorrer do anno seguinte, sempre com o mesmo resultado, tendo-se passado, depois, um longo intervallo de anno e meio, quando foram novamente retomadas, em 1932. Nesta vez as series de assucares foram preparadas com soluções assucaradas, esterilisadas separadamente do meio, por aquecimentos descontinuos em temperatura baixa, como foi acima referido. Deve ser dito aqui que deste ponto por deante a amostra *gallinarum* gazogeno, P 28, ficou provisoriamente posta de lado. Assignalamos, entretanto, que pelos seus caracteres fermentativos observados nas provas acima, esta amostra deveria ser considerada antes um typo *intermedius* gazogeno, dada a sua actuação sobre o meio de Jordan, adeante descripto, e sobre a xylose e a sorbita.

Os resultados se juxtapõem, em geral, aos obtidos inicialmente, permittindo assegurar uma notavel constancia no tempo, dos caracteres fermentativos. Foi assim que a xylose continuou sendo fermentada por todos os typos, não fermentada pelo *intermedius*; a sorbita continuou não atacada pelo *gallinarum*, atacada pelos demais typos. Uma particularidade deve ser salientada na fermentação deste assucar, em relação ao *pullorum* gazogeno de um lado e ao *intermedius* e *pullorum* não gazogeno de outro lado. No primeiro grupo, do *pullorum* gazogeno, a fermentação é permanente, no segundo grupo, do *pullorum* não gazogeno e do *intermedius*, ella é mascarada sempre, tardiamente, por alcalinisações. Dulcita e maltose mantiveram se tal qual vistas nas primeiras provas e no correr das subsequentes. Sómente o *intermedius* revelou, com as passagens repetidas, mas não successivas, nos assucares, maior rapidez de fermentação da maltose, pois, fermentava-a entre 2-10 dias no começo, e por fim, apenas duas amostras, a saber, P 24, o fazia em 3 dias e P 7 em dois; os demais representantes deste typo a fermentavam em 24 horas. De passagem, podemos adeantar que este typo apresentou no vermelho de methyla phenomeno analogo, isto é, passou a dar reacção positiva com todas as amostras.

Finalmente em Maio de 1933 fizemos novas provas de fermentação de assucares para cotejo com as anteriores. A glycose, levulose, xylose, saccharose, lactose, dulcita, mannita, salicina e raffinose conservavam identica a fermentação referida com os diversos typos. A maltose continuava fermentada em tempo irregular, de 2 a 10 dias, pelas amostras *intermedius*. Esta demora na fermentação fez, ainda uma vez, falsear a prova do vermelho de methyla de Clark & Lubs, applicada á differenciação do grupo *pullorum-gallinarum* por Rettger, revelando-a a sem valor na sua applicação neste sentido. Illustra a influencia de fa-

clores extrinsecos sobre o resultado da prova o que observamos, por exemplo, com as amostras P 24 e P 27. P 24 fermenta maltose no tubo de Schmidt em 6 dias e no emtanto é Vm (vermelho de methyla) negativa; P 27, pelo contrario, fermenta este assucar no decimo dia e é Vm positiva.

No quadro 15 vão referidos os resultados das duas provas, para comparação.

**Quadro 13**

**Fermentação da maltose e prova do VM (Clark & Lubs).**

| | Tempo em dias | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 6 | 10 | VM |
| *Pullorum* não gazogeno | | | | | | |
| P 1, G 39 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | — |
| *Pullorum* gazogeno | | | | | | |
| P 3, 5, 6, 9, 10, 12, 13, 22 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | — |
| *Intermedius* | | | | | | |
| P 7 | a | a | a | a | n | + |
| P 14 | a | a | a | a | n | + |
| P 20 | a | a | a | a | a | |
| P 21 | 0 | a | a | n | n | + |
| P 24 | 0 | 0 | 0 | a | a | — |
| P 25, P 26 | a | a | a | a | a | + |
| P 27 | 0 | 0 | 0 | 0 | a | + |
| *Gallinarum* | | | | | | |
| G 28, 29, 31, 32, 37, P 29 | a | a | a | a | a | + |
| G 30 | a | a | a | a | n | + |

*Notações*: 0 — inalternado; a — acido; n — neutro; + positivo; — negativo.

Certa differenciação foi conseguida com a rhamnose, levando em consideração o factor tempo, como se vê no quadro 14.

Fermentaram bem e rapidamente os 2 typos *pullorum*, enfraquecendo no fim a acidez, com os gazogenos; o *intermedius* fermentou um pouco mais devagar, sem alcalinisar depois; as amostras *gallinarum* fermentaram lentamente. Estes resultados foram obtidos com soluto do hydrocarbonado esterilisado por filtração e não differiam quasi daquelles conseguidos com esterilisação baixa e descontinua.

Quadro 14

Fermentação da rhamnose.

| Amostras | Tempo em dias | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 7 | 10 |
| *Pullorum* não gazogeno | | | | | | | |
| P 1, G 39 | + | + | + | + | + | + | + |
| *Pullorum* gazogeno | | | | | | | |
| P 3, P 5, P 6, P 9, P 10, P 13, P 22 | + | g | g | g | g | + | ± |
| P 12 | g | g | g | g | g | ± | ± |
| *Intermedius*: | | | | | | | |
| P 7, P 14, P 20, P 21, P 24, P 25, P 26, P 27 | — | ± | + | + | + | + | + |
| *Gallinarum* | | | | | | | |
| G 28, G 29, G 30, G 31, G 32, G 37 | — | — | ± | + | + | + | ± |
| P 29 | — | — | — | ± | ± | ± | ± |

*Notações* — +, positivo; g, acido e gaz; —, negativo; ±, fracamente positivo

Em relação á fermentação da sorbita, duas amostras *pullorum*, P 1, não gazogeno e P 22, gazogeno, não a fermentaram em algumas provas, tendo-o porém feito no inicio, em 1930. As demais fermentaram constantemente, em ataque lento mas definitivo. Pode, pois, o *pullorum* ser considerado fermentador *constante e lento* deste assucar. Um pouco mais activo foi o *intermedius*, tambem fermentador constante. O *gallinarum* não a fermentou jamais. Deve ser notado que a observação destas modificações fermentativas necessita um periodo de observação muito prolongado, porque ellas muitas vezes só apparecem depois de 15 a 30 dias de cultura. Mas ficou bem assegurada esta propriedade do grupo *pullorum-gallinarum*. Tambem a acção favorecedora da sorbita sobre a producção de colonias filhas, a que já nos referimos nesta publicação, merece ser realçada.

Na nossa longa peregrinação, acompanhando as propriedades dessas bacterias, não pudemos confirmar as verificações de Hendrickson, de Edington e de Manninger, sobre modificações nas propriedades culturaes sobrevindas nas bacterias desse grupo, no correr do tempo. É provavel estarem certas as observações de May & Goodner, quanto á parti-

cularidade das amostras novas, recentemente isoladas, comportarem-se de maneira mais irregular na acção fermentativa sobre os assucares do que as amostras antigas, de longa conservação em laboratorio. Foi o que vimos se dar com as amostras *intermedius*, que, muito preguiçosas no ataque á maltose, em 1930, se nos mostraram mais diligentes nesta propriedade, posteriormente. Mas isto está longe de representar a perda ou acquisição da capacidade fermentativa, quer neste assucar quer na dulcita, assucares estes mais vezes referidos pelos pesquizadores como sujeitos a anomalias frequentes na fermentação pelas varias amostras estudadas na Europa e America do Norte.

— • —

Prendeu-nos particularmente a attenção a actividade dos representantes do grupo *pullorum-gallinarum* sobre a maltose, em meios usuaes ou addicionados de sôro.

Como já foi dito acima, ha ainda desaccôrdo sobre o valor differencial deste assucar. Não sendo elle normalmente alterado pelos typos *pullorum*, gazogeno ou não gazogeno, varios pesquizadores observaram amostras que se desviavam deste padrão, em meios normaes e especialmente em meios contendo sôro.

Em virtude das pesquizas já effectuadas no sentido de explicar estas anomalias de actuação do *pullorum*, tres causas provaveis foram aventadas para ellas, afóra, naturalmente, a possibilidade de haver amostras atypicas.

*a*) Hydrolyse thermica da maltose (May & Goodner, Manninger, Mallmann)

*b*) hydrolyse alcalina da maltose (Edwards)

*c*) acção excitante da funcção fermentativa bacteriana em meio com sôro (Spray & Doyle).

Segundo Mallmann, a esterilização do meio por filtração em vela, evitando a acção do calor sobre o assucar, supprime o apparecimento da fermentação. Edwards observou, em opposição a Mallmann, fermentação anomala dos *pullorum*, mesmo nos casos de maltose esterilizada por filtração em vela.

Nas series de provas que realisamos, foram feitas esterilisações em condições variadas, seja filtrando, seja esterilizando por aquecimento descontinuo a 60°, seja ainda por aquecimento a 108° durante 1 hora. Resultou evidencia de nenhuma influencia thermica sobre a fermen-

tação da maltose. Chegamos mesmo, em algumas experiencias, a aquecer o assucar a 120° C., durante uma hora, sem notar apperecimento de fermentação pela semeadura posterior de amostras *pullorum*. Em todos os casos, aliás, em que foram usados meios habituaes, sem sôro, nenhuma amostra *pullorum*, gazogena ou não gazogena, provocou a mais ligeira fermentação deste assucar, mesmo observada durante 30 dias a 37° C.

Edwards, para explicar seus casos de fermentação anomala, acredita que a alcalinização do meio realisado pelo *pullorum*, provoca a hydrolise da maltose; em apoio á sua idéa, verifica que soluções alcalinas de maltose, de pH 8.06 ou 8.76, baixam rapidamente seu poder rotatorio, e que meios obtidos a partir destas soluções são rapidamente fermentados pelo *pullorum*. Assim, de accôrdo com Edwards o cyclo Alcalinização — Hydrolise — Fermentação — é indispensavel para que se verifiquem casos de fermentação anomala pelas amostras *pullorum*.

Seria interessante, a vista dos resultados de Edwards, alcalinisar préviamente o meio de cultura total, com um germen fortemente alcalinizador e inactivo sobre os assucares, fazendo depois a verificação biologica da hydrolise da maltose, no meio filtrado ou aquecido, por meio do *pullorum* ou outro qualquer germen, capaz de fermentar a glycose e não a maltose. Foi-nos impossivel entretanto realizar no momento esta experiencia, por nos faltar uma amostra alcalinizadora nas condições estipuladas. Mas as verificações de Edwards nos suggeriram a hypothese de ser a ausencia de acção tardia sobre a maltose devida ao facto de não serem nossas amostras *pullorum* capazes de alcalinizar os meios de cultura. Não havendo o desdobramento prévio da maltose em glycose, pela acção combinada da alcalinidade e do calôr da estufa, era de prevêr que não se observasse, como não se observou, fermentação.

**Quadro 15**

Variações do pH em agua de peptona a 3 %, addicionada de maltose Riedel a 1 %, esterilizada por filtração. Temperatura 37° C.

| *Pullorum* | pH inicial | 1d. | 2ds. | 4ds. | 5ds. | 7ds. | 9ds. | 13ds. | 18ds. | 25ds. | 37ds. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| P 1 | 6.8 | 6.4 | 6.4 | 6.5 | 6.5 | 6.7 | 6.6 | 6.6 | 6.8 | 6.8 | 6.8 |
| P 22 | 6.8 | 6.4 | 6.5 | 6.5 | 6.7 | 6.7 | 6.6 | 6.6 | 6.7 | | |

Occorreu-nos então alcalinizar o meio de cultura artificialmente, até pH 9.0, por meio de uma solução esteril de carbonato de sodio. Depois de deixar este meio alcalino esteril, durante 20 dias na estufa, foi elle neutralizado e semeado com varias amostras *pullorum* e outras especies de germens. O resultado inteiramente negativo desta experiencia deixa-se vêr no quadro 16. O meio de cultura utilizado foi agua de peptona a 3 %, esterilizada a 120° C., durante 15', alcalinizada até pH 9.0 e juntada de 2 % de maltose Riedel, esterilizada por filtração. Como indicador foi juntado o de Andrade.

**Quadro 16**

| Amostras | Meio normal para prova de fermentação, com 1o/o de maltose | Meio com base na agua de peptona a 3o/o. Hydrolysado a pH 9.0 durante 20 dias a 37o C. |
|---|---|---|
| G 39, P 2, P 3, P 4, P 5, P 6, P 8, P 9, P 12, P 13, P 16, P 18, P 19, P 22, P 1 | 0 até 25 dias | 0 até 5 dias |
| Bacillo dysenterico typo Schmitz, D 17 | 0 até 25 dias | 0 até 5 dias |
| Bacillo dysenterico typo Shiga, n. 849 | 0 até 25 dias | 0 até 5 dias |
| Bacillo dysenterico typo Flexner, n. 829-a | AA 48 horas | AA 24 horas |
| Bacillo dysenterico typo Flexner, n. 804 | A 24 horas | AA 24 horas |
| *Tests.* | 0 até 25 dias | 0 aié 5 dias |

*Notações* — 0, inalterado; A, acido; AA, fortemente acido. Dosagem colorimetrica.

É provavel que a contradicção existente entre nossas verificações e as de Edwards seja por termos submettido á hydrolyse a maltose no meio de cultura total, ao passo que este autor utilizou uma solução em agua distillada alcalinizada.

Considerando, entretanto, os resultados obtidos com nossas amostras, no prazo de 30 dias em meios habituaes, e o fracasso das nossas tentativas para obter um desdobramento da maltose, tambem nos meios de cultura habituaes, não nos parece que sejam frequentes anomalias ou irregularidades no comportamento dos germens dos typos *pullorum* em contacto com a maltose, nem que faltem aos meios com base deste assucar condições de estabilidade sufficientes para o trabalho bacteriologico.

A verificação inicial de Spray & Doyle, sobre a fermentação rapida da maltose em meios contendo sôro, foi inteiramente confirmada por nós. Todas as nossas amostras *pullorum* fermentaram francamente, em 24 horas, e a maioria dos *pullorum* gazogenos, com abundante pro-

ducção de gaz. Como haviamos entretanto usado nestas experiencias sôro não aquecido, fizemos novas series em que o sôro era submettido préviamente a temperaturas variadas, e as semeamos tambem com outros germens inactivos sobre maltose (Quadro 17).

**Quadro 17**

Influencia do sôro na fermentação da maltose. Temperatura 37º C. Leituras em 1 e 3 ds.

| Amostras | Maltose em meio habitual | Maltose em meio com sôro não aquecido | Maltose com sôro aquecido a 55º C. | Maltose com sôro aquecido a 60º C. |
|---|---|---|---|---|
| Bacillo dysenterico typo Shiga, | 0 | A | A | A |
| Bacillo dysenterico typo Shiga, n. 793 | 0 | A | A | A |
| Bacillo dysenterico typo Schmitz, n. 824 | 0 | A | A | A |
| *Pullorum* P 16 | 0 | AG | AG | AG |
| Gonococcus n. 9 | 0 | A (3ds.) | A (3ds.) | A (3ds.) |
| *Pasteurella avicida.* n. 1716 | 0 | A | A | A |
| *Tests*: | | | | |
| Bacillo dysenterico typo Flexner, n. 822 | A | A | A | A |
| Bacillo *coli*, n. 938 | AG | AG | AG | AG |
| Bacillo *coli*, n. 489 | AG | AG | AG | AG |

Assim, o sôro aquecido até 60º não perdeu seu poder activador sobre a fermentação da maltose.

**Quadro 18**

Influencia de temperaturas elevadas sobre a acção activadora do sôro na fermentação da maltose. Cultura a 37º C. Amostra empregada na próva P 22.

| Prazo de incubação | Sôro não aquecido | Sôro aquecido a 100º C. | Sôro aquecido a 120º C. |
|---|---|---|---|
| Dias | pH | pH | pH |
| 0 | 7.3 | 7.5 | 7.5 |
| 1 | muito acido | 7.2 | 7.2 |
| 2 | « | 7.1 | 7.1 |
| 3 | « | 7.1 | 7.1 |
| 4 | « | 7.1 | 7.1 |
| 6 | « | 7.2 | 7.2 |
| 7 | « | 7.2 | 7.2 |
| 9 | « | 7.2 | 7.2 |
| 11 | « | acido 7.0 | 7.3 |
| 15 | « | muito acido | 7.2 |
| 20 | « | « | 7.1 |
| 27 | « | « | 7.1 |
| 41 | « | « | 7.1 |

*Notações* — Dosagem colorimetrica.

Uma outra experiencia, feita com a amostra P 22, parece indicar ser necessario um aquecimento prévio do sôro, superior a 100° C. durante 30 minutos, para destruir totalmente a acção activadora do sôro, vê-se no quadro 18.

Esta experiencia indicava a probabilidade de ser o phenomeno de fermentação da maltose regido por um factor existente no proprio sôro, provavelmente um enzyma, capaz de desdobrar a maltose até glycose, a qual seria então facilmente atacada pelo *pullorum*, bem como por todos os germens capazes de agir sobre glycose e não sobre maltose, como aliás succedeu na experiencia reproduzida no quadro 17.

A presença de uma *maltase* no sôro de cavallo, perturbando as verificações de fermentação dos assucares pelas bacterias, já se fizera notada a Ten Broeck, quando este estudava a capacidade fermentativa dos germens da septicemia murina. Em 1920 verificou elle que nos meios enriquecidos com sôro de cavallo, o bacillo dysenterico typo Shiga parecia capaz de desdobrar a maltose, o que não fazia nos meios communs de fermentação. Imaginamos confirmar a verificaçço de Ten Broeck, estudando o desvio polarimetrico da solução de maltose, submettida á acção do sôro. As dosagens polarimetricas foram feitas repetidamente pelos Drs. Decio A. de Souza e Candido Florence, a quem agradecemos a valiosa collaboração, e seus resultados tem expressão nos dois protocollos de exames reproduzidos nos quadros 19 e 20.

**Qudro 19**

Protocollo de exame polarimetrico de solução de maltose com sôro de cavallo, recolhido um anno antes. Temperatura 37° C.

| | Hora 0 | Hor. 24 | Hor. 48 | 5° dia | 10o dia |
|---|---|---|---|---|---|
| Solução de sôro a 5 °/o, não aquecida | 0o 5 | 0o 4 | 0o 45 | 0o 45 | 0o 45 |
| Solução de sôro a 5 °/o, com chlorhydrato de quinina a 0.025 °/o | 0o 5 | 0o 5 | 0o 55 | 0o 5 | 0o 5 |
| Solução de maltose a 2 °/o em agua physiologica | 4o 75 | 4o 85 | 4o 75 | 4o 80 | 4o 75 |
| Solução de maltose a 2 °/o mais sôro a 5 °/o em agua physiologica, não aquecida | 4o 40 | 4o 00 | 3o 90 | 2o 35 | 1o 75 |
| Solução de maltose a 2 °/o mais sôro a 5 °/o em agua physiologica, aquecido a 60°30m. | 4o 30 | 4o 20 | 4o 15 | 4o 05 | 3o 80 |
| Idem mais sôro aquecido a 70° * | 4o 25 | 4o 15 | 4o 05 | 4o 20 | 4o 15 |
| Idem, mais sôro aquecido a 80° * | 4o 20 | 4o 00 | 4o 05 | 4o 15 | 4o 05 |
| Solução de maltose a 2 °/o mais sôro não aquecido a 5 °/o, e Chlorhydrato de quinina a 0.025 °/o | 4o 30 | 4o 10 | 3o 90 | 2o 80 | 1o 70 |
| Sol. de glycose a 2 °/o, mais sôro a 5 °/o não aquecido. | 1o 45 | 1o 45 | 1o 45 | 1o 50 | 1o 35 |

*As leituras foram prejudicadas pela opacificação consequente á coagulação parcial do sôro pelo aquecimento.

**Quadro 20**

Protocollo de exame polarimetrico da solução de maltose com sôro de cavallo recolhido ha 3 mezes. Temperatura 37° C.

| | Hora 0 | Hor. 24 | Hor. 48 | 5 dias | 10 dias |
|---|---|---|---|---|---|
| Solução (') de sôro a 5 o/o, não aquecida | 0°,50 | 0°,50 | 0°,45 | (o) | 0,°50 |
| Solução de sôro a 5 o/o, não aquecida, mais chlorhydrato de quinina a 0.025 o/o | 0°,55 | 0°,60 | 0°,60 | 0°,55 | 0°,60 |
| Solução de glycose a 2 o/o | 1°,70 | 1°,70 | 1°,70 | 1°,70 | 1°,70 |
| Solução de glycose a 2 o/o mais sôro não aquecido a 5 o/o | 1°,30 | 1°,25 | 1°,30 | 1°,20 | 1°,20 |
| Solução de maltose a 2 o/o | 4°,05 | 4°,05 | 4°,05 | 4°,05 | 4°,05 |
| Solução de maltose a 2 o/o mais sôro não aquecido a 5 o/o | 3°,60 | 3°,20 | 2°,80 | 1°,65 | (o) |
| Solução de maltose a 2 o/o mais sôro fresco a 5 o/o e chlorhydrato de quinina a 0.025 o/o | 3°,60 | 3°,00 | 2°,60 | 1°,45 | 1°,20 |
| Solução de maltose a 2 o/o mais sôro aquecido a 60° 1 hora, a 5 o/o | 3°,60 | 3°,55 | 3°,50 | 3°,40 | 3 ,10 |
| Solução de maltose a 2 o/o mais sôro aquecido a 70° 1 hora, a 5 o/o | 3°,45 | 3°,40 | (o) | (o) | (o) |

(') — Em agua physiologica.

(o) — Contaminados os tubos.

Nota — Em outra esperiencia foi usado tambem o fluoreto de sodio a 0.025 o/o, como antifermento. Não foi possivel observar nenhuma influencia deste corpo na queda do poder rotatorio da maltose em contacto com o sôro.

Ficou desta fórma evidenciada a presença no sôro de cavallo de um factor capaz de desdobrar a maltose, extraordinariamente resistente ao calor, ao envelhecimento e aos anti-fermentos chimicos mais geralmente conhecidos.

Cremos razoavel deduzir das provas bacteriologicas e polarimetricas, que o sôro normal ou insufficientemente aquecido, decompõe a maltose em glycose, a qual é por sua vez desdobrada pelas bacterias até acido ou até gaz, conforme a capacidade fermentativa de cada grupo observado.

7) *Producção de gaz.* — Relacionada á fermentação está a producção de gaz, ponto importante na differenciação do grupo *pullorum-gallinarum*, mas um tanto controvertido na opinião dos pesquizadores, vimos acima.

Durante o tempo que vae do segundo semestre de 1930 ao primeiro semestre de 1933, quasi tres annos, por consequencia, não observamos modificação da propriedade gazogena, seja na acquisição, seja na perda della, em qualquer das amostras, menos ainda entre os *pullorum*. Sendo de longa conservação em laboratorio quasi todas as amostras por nós manuseadas, em numero de 25, podemos considerar este caracter como constante, com segurança.

8) *Acção sobre o sal de Seignette (Tartarato duplo de potassio e sodio).* — Duncan & Henry, em 1927, servem-se do acido tartarico dextrogyro para caracterisar as bacterias do grupo *pullorum.gallinarum*. Para elles o *gallinarum* acidifica o meio contendo essa substancia e o pullorum nada faz. Publicado o trabalho de Jordan & Harmon, em 1928, sobre o sal de Rochella na caracterização bacteriana, serve-se Mallmann, tres annos depois, do d-tartarato de potassio e do mucato de sodio na differenciação das bacterias do grupo *pullorum-gallinarum*. Suas conclusões são assim resumidas:

| SAL | BACTERIA | |
|---|---|---|
| | *pullorum* | *gallinarum* |
| d-tartarato de potassio | alcali | acido |
| mucato de sodio | acido | alcali |

Nós só dispuzemos do sal de Seignette e deu-nos elle resultados uniformes, observado até o 6.º dia. Usamos na preparação do meio a modificação proposta ao meio de Jordan & Harmon por Rodrigues, em 1931, na caracterização do bacillo de Sonne (Kruse E): nesta modificação o meio é recoberto de paraffina, porque Rodrigues observou ser a anaerobiose favoravel ao ataque do tartarato pela bacteria.

Não acidificaram-n'o todas as amostras *pullorum* gazogeno e não gazogeno, bem como o *intermedius*. Acidificaram-n'o dentro de 24 a 72 horas, todos os *gallinarum*. A amostra P 28 se comportou aqui como os *intermedius*, não acidificando o meio. Durante tres annos a capacidade fermentativa dos *gallinarum* e a indifferença no ataque ao sal pelo *pullorum* e pelo *intermedius*, mantiveram-se constantes.

Nossos resultados concordam com os de Mallmann, applicados no mesmo sentido.

*

* *

Recapitulando, em resumo, para fixar bem, os caracteres biologicos observados nas amostras por nós trabalhadas, podemos classifcal-os em:

1) *Caracteres geraes.* — Bastonetes curtos, arredondados nas extremidades, não dotados de mobilidade, Gram negativos. Fórmas filamentosas produzem-se nas culturas em meios liquidos. Dispõem-se isoladamente, excepcionalmente são vistas em cadeias de poucos elementos. Em meios de cultura solidos dão colonias, de tamanhos variaveis com

o typo microbiano, transparentes, de superficie lisa e brilhante, terminando os bordos regulares ou denteados. Turvam uniformemente o caldo peptonado e dão pequeno deposito pulverulento, com o correr dos dias, dissolvido pela agitação. Algumas vezes dão collar; não dão pellicula.

Acidificam lentamente o leite e o sôro de leite tornasolados; algumas amostras alcalinizam tardiamente. Não dão indol. Transformam irregularmente nitratos em nitritos. Formam no agar-chumbo ou agar-bismutho quantidade variavel de gaz sulfhydrico. Não são proteoliticas; crescem na gelatina a 20°, sem fundil-a. Mal crescem na batata, em induto, quasi invisivel. Não geram pigmentos nem fluorescencia. Decompõem sempre, com producção de acido, acompanhada ou não de gaz, conforme o typo bacteriano – glycose, arabinose, levulose, galactose, mannita, inulina, mannose e glycerina. Saccharose, lactose, raffinose, salicina, inosita não são alterados. Rhamnose, dulcita, maltose e sorbita são fermentadas por alguns, não por outros, e se prestam á differenciação dos componentes do grupo.

2) *Caracteres differenciaes.*

| Meio de cultura | *Pullorum* não gazogeno | *Pullorum* gazogeno | *Gallinarum* gazogeno ? | *Gallinarum* não gazogeno | *Intermedius* |
|---|---|---|---|---|---|
| Agar de Gassner | Colonia e meio de cultura azues | Col. e meio de cult. amarellados | Col. e meio de cult. amarellos | Col. e meio de cult. amarellos | Col. e meio de cult. amarellos |
| Agar Drigalski (maltosado) | Colonia e meio de culura azues | Col. e meio de cultura azues | Col. e meio de cult vermelhos | Col. e meio de cult. vermelhos | Col. e meio de cult. vermelhas |
| Vermelho neutro, anaerobio, sem glycose | Inalterado | Fluorescencia | Inalterado | Inalterado | Fluorescencia |
| PRODUÇÃO DE $H_2S$ | | | | | |
| a) gelatina e "Iron-peptone" | + | + | + | + | irregular e – |
| b) Pacheco & Mello | – | – | – | + | – |
| c) Pacheco & Mello cystinado | – | – | – | + + | – |
| FERMENTAÇÃO | | | | | |
| a) glycerina | + irregular | + irregular | + | + irregular | + |
| b) rhamnose | + 1 dia | + 1 dia | + 5 dias | + 4 dias | + 2 dias |
| c) xylose | + | + | | + | |
| d) dulcita | | – | + | + | + |
| e) sorbita | + lento | + lento | + lento | – | + lento |
| f) maltose | | – | + | + | + |
| Producção de gaz | – | + | + | | + |
| Tartarato | | – | – | | |

## RELAÇÕES ANTIGENICAS

Desde que Smith & Ten Broeck, em 1915, lançaram as bases para o estudo das relações antigenicas dos representantes do grupo *pullorum-gallinarum*, numerosos autores teem-se occupado do assumpto, tendo sido postos em confronto com a maioria dos respresentantes dos generos *Salmonella* e *Shigella*. Seria demasiado longo enumerar todos estes trabalhos, sendo preferivel agrupar seus resultados n'um quadro, como se vê no quadro 20. Dispensamo-nos de incluir neste quadro verificações esparsas que demonstram a inexistencia de quaesquer relações de parentesco sôrologico com as especies do genero *Shigella*, com o *Corynebacterium pseudotuberculosis*, a *Pasteurella avicida* e a *Escherichia coli*.

Até 1928 estava bem estabelecido:

*a*) que todos os germens do grupo *pullorum-gallinarum* teem a mesma constituição antigenica.

*b*) que existe parentesco sôrologico muito pronunciado com a *Salmonella (Eberthella) typhosa*, menos pronunciado com a *Salmonella enteriditis* e com a *S. paratyphi* (B. paratyphico A).

Estas relações decorrem dos trabalhos resumidos no quadro 21.

Observações de Takaianagi, referidas por Aoki, e do proprio Aoki, differiram entretanto deste consenso geral, por terem podido verificar nos *pullorum* um antigeno especial, que só reagia com os sôros *pullorum*.

As verificações de Aoki foram confirmadas por Takaianagi, que chegou a demonstrar, por immunização cruzada de camondongos, a sua validez. Os trabalhos de Aoki e collaboradores não foram entretanto acceitos pela «Commissão de Nomenclatura das Salmonellas», reunido recentemente, e da qual o proprio Aoki era membro.

Kauffmann, em longa exposição sobre a sôrologia das salmonellas, publicada em 1931, reune todo o grupo *pullorum-gallinarum* sob a mesma designação «*pullorum*», e lhe dá uma posição antigenica definida, dentro das salmonellas, com presença unica de um só antigeno O, aliás identico ao da *S. typhosa*. Assim, de accôrdo com Kauffmann, um sôro obtido com *pullorum* é inteiramente saturado pelos germens typho ou enteritidis, que possuem o mesmo antigeno O. Em compensação não deve ser saturado nem deve agglutinar suspensões da *Salmonella paratyphi* (B. paratyphica A), de constituição antigenica completamente differente no eschema de Kauffmann.

A descriminação de Kauffmann vem de encontro a todos os demais pesquizadores; entretanto ella não é integralmente acceita pela Sub-

Commissão de Nomenclatura das Salmonellas, que subdivide o typo « *pullorum* » de Kauffmann em *pullorum* e *gallinarum*, a custa de elementos puramente culturaes.

Nenhum dos numerosos pesquizadores que se teem preoccupado com o problema, procurou estudar separadamente o typo *pullorum* não gazogeno, sob o ponto de vista de suas relações sôrologicas com os demais typos. Sobre o *intermedius*, ha ligeiras referencias no trabalho de Beck & Eber, de 1927. Quanto ao typo *gallinarum* gazogeno ainda não se encontram referencias na litteratura. Finalmente, o typo *gallinarum* Duisburg, posto em evidencia por Kauffmann, a nosso vêr identico ao que descrevemos como *intermedius*, não foi ainda estudado sôrologicamente em conjunto.

—— • ——

Iniciando o trabalho de caracterização cultural de nossas amostras, procuramos tambem apoial-o em exames sôrologicos. Com sôros obtidos de cabras immunizadas, procedemos a agglutinação de todas as amostras em estudo, além de outras da Collecção do Instituto Biologico de S Paulo, representando diversas especies de Salmonellas e Shigellas. Preparamos assim sôros agglutinantes com as amostras: P 1, *pullorum* não gazogeno; P 14, *intermedius*; G 30, *gallinarum*. *Salmonella typhosa* n.º 895 (Amostra Hopkins); *S. enteritidis* 669 (273 da Coll. de Krumwiede); *S. schottmülleri* n.º 690; *S. columbensis* n.º 658; *S. anatum* n.º 817 da Amer. Type Cult. Coll.; *S. anatum* n.º 818 da Amer. Type Cult. Coll.; *S. psittacosis*, recebida de Lewis; *Shigella paradysenteriae*, var. Sonne, n.º 115; *S. paradysenteriae*, var. Flexner, n.º 820; *S. paradysenteriae*, var. Schmitz, n.º 844. Os sôros eram preparados inoculando em cabra, subcutaneamente, emulsões vivas de culturas de 24 horas, cada tres dias; em seguida, culturas mortas pelo phenol ou pelo calor (60º), na veia.

Nada de novo, além do conhecido e acima referido, foi observado sobre a relação sôrologica entre os germens estudados. Nenhuma affinidade revelaram os representantes do grupo *pullorum-gallinarum* para os bacillos dysentericos. Egualmente não houve coagglutinações com as salmonellas de aves por nós utilisadas, nem com as *S. schottmülleri*. O parentesco universalmente conhecido, entre germens do grupo *pullorum-gallinarum* e as *Salmonellas typhosa*, *paratyphi* e *enteritidis*, foi por nós de novo encontrada. Em relação as affinidades entre os diversos componentes do grupo, pareceu-nos, pelos resultados desta primeira

**Quadro 21**

| SÔROS | AMO | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | *S. pullorum* | | *S. gallinarum* | | *S. typhosa* | | *S. paratyphi* | | *S. shottmülleri* | | *S. en* |
| | Agg. | Autor | Agg. | Autor | Agg. | Autor | Agg. | Autor | Agg. | Autor | Agg. |
| *Salmonella pullorum* | | | T | Reb. M | + | Reb. | + | Reb. A | 0 | A | + |
| *S. gallinarum* | + | T Reb. M | | | + | Auto-res | + | Reb. A | 0 | A | + |
| *S. typhosa* | + | Reb. M A | + | Auto-res | + | | + | Reb. A | 0 | A | + |
| *S. paratyphi* | + | Reb. A | + | Auto-res | + | Reb. A | | | 0 | x | + |
| *S. shottmülleri* | 0 | A | 0 | A | + | Reb. A | 0 | x | | | + ou 0 |
| *S. enteritidis* | 0 | Reb. M A | + | Auto-res | + | A | + | Reb. | 0 | Reb. x | |
| *S. suipestifer* | 0 | Auto-res | 0 | Auto-res | + | A | 0 | Reb. x | + | x | 0 |
| *S. abortus-equi* | 0 | M | 0 | M | 0 | x | 0 | x | + | x | 0 |
| *S. typhimurium* (Breslau) | 0 | A | 0 | A | + | A | 0 | x | + | x | 0 |
| *S. suipestifer* (Newport) | 0 | A | 0 | A | 0 | A | 0 | x | + | x | 0 |
| *S. suipestifer* (Stanley) | 0 | A | 0 | A | + | A | 0 | x | + | x | 0 |

*Notações* — Takaianagi, (T) Rebrassier, (Reb.) Mulsow, (M) Matthews, (Mt) Gressel, (G)

NOTA — Quadro compilado dos trabalhos de Takaianagi 1926, Smith & Ten Broeck 19 1928, Krumwiede & Conh 1917, Kraus 1919, Hadley 1919, Gresse 1927, Ehrlich 1926, Aoki 1928.

prova, não ser possivel estabelecer differença sôrologica importante entre elles.

Sendo os sôros obtidos em cabra geralmente de fraco poder agglutinante, as amostras que demonstraram nesta prova inicial alguma affinidade sôrologica foram utilizadas para se preparar sôro em coelho, melhor productor de agglutinas que a cabra. Usamos agora, as amostras P 1 e G 39 *pullorum* não gazogeno. P 13 *pullorum* gazogeno. P 14 *intermedius*, G 30 e G 27 *gallinarum* não gazogeno. P 28 *gallinarum* gazogeno. *S. typhosa* 895, *S. enteritidis* (Jena) e *S. paratyphi* (Tunis), as duas ultimas recebidas do Prof. Kauffmann. Germens, mortos pelo phenol e depois vivos, eram inoculados na veia marginal da orelha, de tres em tres dias. Para obter antigeno retiramos indulto de cultura do agar aconselhado por Meyer & Batchhelder, usado para obter antigeno da *Pasteurella pestis*. Conseguimos assim em 24 horas vegetação abundante, com todas as amostras, mesmo da amostra P 1, *pullorum* não gazogeno, cujo crescimento é lento nos meios habituaes de cultura, como vimos.

Pode-se inferir do quadro 22, onde estão tabellados os resultados obtidos, a perfeita identidade sôrologica entre os diversos typos do grupo *pullorum-gallinarum*, ao lado de suas relações sôrologicas com a *S. typhosa* e *S. enteritidis*.

Finalmente, por occasião de finalizar as provas biologicas, repetimos o exame sôrologico de representantes de todos os typos do grupo estudado, usando ainda sôros obtidos em coelhos, immunisados recentemente, pelo mesmo processo acima referido (quadro 23).

Não é possivel deduzir dos resultados obtidos qualquer differenciação sôrologica entre os diversos typos do grupo *pullorum-gallinarum*: uma menor agglutinação das amostras *gallinarum* gaz negativas, já vista anteriormente, parece correr por conta antes de mais fraca agglutinabilidade, como o demonstra o seu confronto com os sôros homologos. O sôro obtido com a amostra P 14, *intermedius*, embora de mais fraco poder agglutinante, atuou egual e indifferentemente com todas as amostras do grupo.

A unidade sôrologica entre todos os typos do grupo é ainda reforçada pelo exame das provas de saturação das agglutininas, vistos nos quadros 24 a 30.

**Quadro 22**

Provas de agglutinação das diversas amostras *pullorum-gallinarum* entre si e das bacterias com ellas relacionadas.

| Amostras | SÔROS | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | P. 1 | P. 14 | G. 30 | *S. typhosa* | *S. enteritidis* |
| P 1 | 15000 | 8000 | 400 | — | 500 |
| G 39 | 15000 | 15000 | 1600 | 400 | 500 |
| P 7 | 10000 | 8000 | 800 | 1600 | 100 |
| P 14 | 15000 | 15000 | 400 | 400 | 100 |
| P 20 | 15000 | 10000 | 800 | 1600 | 200 |
| P 21 | 10000 | 6000 | 800 | 400 | 100 |
| P 24 | 15000 | 8000 | 1600 | 400 | 200 |
| P 25 | 15000 | 12500 | 800 | 800 | 200 |
| P 26 | 10000 | 4000 | 800 | 400 | 50 |
| P 27 | 7500 | 6000 | 800 | 800 | 0 |
| P 2 | 15000 | 15000 | 800 | 400 | 200 |
| P 3 | 15000 | 15000 | 1600 | — | 1000 |
| P 4 | 10000 | 4000 | 400 | 400 | 50 |
| P 5 | 15000 | 6000 | 400 | 800 | 0 |
| P 6 | 15000 | 15000 | 200 | 1600 | 1000 |
| P 8 | 15000 | 15000 | 400 | 3200 | 200 |
| P 9 | 15000 | 4000 | 200 | 400 | 100 |
| P 10 | 15000 | 15000 | 1600 | 800 | — |
| P 11 | 15000 | 8000 | 400 | 1600 | 500 |
| P 12 | 10000 | 15000 | 1600 | 400 | 1000 |
| P 13 | 12500 | 15000 | 1600 | 400 | 100 |
| P 15 | 15000 | 15000 | 1600 | 1600 | 500 |
| P 16 | 15000 | 15000 | 1600 | 800 | 200 |
| P 18 | 10000 | 15000 | 1600 | 400 | 200 |
| P 19 | 15000 | 4000 | 400 | 800 | 0 |
| P 22 | 10000 | 15000 | 1600 | 200 | 500 |
| P 29 | 5000 | 2000 | 200 | 200 | 0 |
| G 27 | 10000 | 4000 | 200 | 0 | — |
| G 28 | 15000 | 2000 | 400 | 200 | 50 |
| G 29 | 15000 | 2000 | 200 | 100 | 1000 |
| G 30 | 15000 | 4000 | 400 | 200 | — |
| G 31 | 10000 | 2000 | 400 | 0 | 0 |
| G 32 | 7500 | 2000 | 400 | 0 | — |
| G 33 | 10000 | 2000 | 100 | 400 | — |
| G 34 | 5000 | 2000 | 200 | 0 | — |
| G 36 | 10000 | 2000 | 200 | 0 | — |
| G 37 | 5000 | 2000 | 100 | 0 | 0 |
| *S. typhosa* 892 | 15000 | 15000 | 200 | 1600 | 0 |
| *S. paratyphi* 687 | 5000 | 2000 | 100 | 0 | 1000 |
| *S. enteritidis* 600 | 15000 | 4000 | 400 | 400 | 1000 |

NOTA — Os sôros referidos no texto não incluidos no quadro foram omittidos porque não offereciam interesse os resultados.

## Quadro 23

| | | Sôro *pullorum* gaz — | | Sôro *Pullorum* gaz + | Sôro *Intermedius* | Sôros *gallinarum* gaz — | | Sôro *gallinarum* gaz + | Sôro *S. typhosa* | Sôro *S. enteritidis* | Sôro *S. paratyphi* |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | P 1 (coelhos 8974 e 8976) Tit. 15000 | G 39 (coelho 8957) Tit. 20000 | P 13 (coelho 8956) Tit. 20000 | P 14 (coelho 9839) Tit. 6400 | G 27 (coelho 8965) Tit. 7500 | G 30 (coelho 8977) Tit. 3500 | P 28 (coelho 9840) Tit. 1200 | 896 (coelho 9943) Tit. 2560 | "Jena" (coelho 9793) Tit. 2500 | "Tunis" (coelho 9886) Tit. 640 |
| *Pullorum* não gazogeno | P 1 | 15000 | 20000 | 10000 | 320 | 10000 | 15000 | 1200 | 640 | 1600 | 640 |
| | G 39 | 15000 | 20000 | 15000 | 640 | 15000 | 10000 | 640 | 1200 | 800 | 640 |
| *Pullorum* gazogeno | P 5 | 10000 | 20000 | 5000 | 640 | 15000 | 5000 | 1200 | 640 | 800 | 640 |
| | P 10 | | | | | | | 1200 | 1200 | 1600 | 640 |
| | P 13 | 10000 | 20000 | 20000 | 640 | 5000 | 7500 | 1200 | 640 | 1600 | 640 |
| | P 22 | | | | 640 | | | 1200 | 320 | 400 | 160 |
| *Intermedius* | P 14 | 7500 | 15000 | 5000 | 3200 | 10000 | 5000 | 1600 | 1600 | 3200 | 1200 |
| | P 7 | | | | 320 | | | 640 | 1200 | 1600 | 640 |
| | P 21 | | | | 320 | | | 1200 | 320 | 1600 | 640 |
| | P 27 | | | | 640 | | | 2500 | 320 | 1600 | 320 |
| *Gallinarum* | G 27 | 2000 | 5000 | 3500 | 320 | 7500 | 3500 | 1200 | 320 | 1600 | 320 |
| | G 30 | 3500 | 15000 | 5000 | 640 | 7500 | 3500 | 1200 | 640 | 1600 | 640 |
| | G 31 | | | | 160 | | | 640 | 320 | 1600 | 320 |
| | G 37 | | | | 160 | | | 1200 | 640 | 800 | 640 |
| *Gallinarum* gazogeno ? | P 28 | 20000 | 20000 | 10000 | 1600 | 10000 | 7500 | 1600 | 1600 | 3200 | 1600 |
| *S. typhosa* | 896 | 3500 | 3500 | 1000 | 320 | 7500 | 5000 | 320 | 2560 | 640 | 160 |
| *Gonococcus* | 669 | 7500 | 5000 | 5000 | 1200 | 5000 | 3500 | 1200 | 1200 | 3200 | 80 |
| *S. paratyphi* | | 1000 | 500 | 200 | 0 | 200 | 500 | 200 | 20 | 40 | 2500 |

**Quadro 24**

Soro agglutinante P 1 (*Pullorum* não gazogeno). Coelho 8976. Titulo 1/15000.

| | ABSORVIDO POR | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Provado com | *Pullorum* gaz — | *Pullorum* gaz + | *Intermedius* | *Gallinarum* gaz — | | *Gallinarum* gaz + |
| | P 1 | P 13 | P 14 | G 27 | G 30 | P 28 |
| P 1 | — | — | — | — | — | — |
| G 39 | — | — | — | — | — | — |
| P 13 | — | — | — | — | — | — |
| P 14 | — | — | — | — | — | — |
| G 27 | — | — | — | — | — | — |
| G 30 | — | — | — | — | + 1/100 | — |
| P 28 | — | — | — | — | — | — |

**Quadro 25**

Sôro agglutinante G 30 (*Gallinarum*). Coelho 8977. Titulo 1/5000.

| | ABSORVIDO POR | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Provado com | *Pullorum* gaz — | *Pullorum* gaz + | *Intermedius* | *Gallinarum* gaz — | | *Gallinarum* gaz + |
| | P 1 | P 13 | P 14 | G 27 | G 30 | P 28 |
| P 1 | — | — | — | — | — | — |
| G 39 | — | — | — | — | — | — |
| P 12 | — | — | + 1/25 | — | — | — |
| P 14 | — | — | — | — | — | — |
| G 27 | — | — | — | — | — | — |
| G 30 | — | — | — | — | + 1/200 | — |
| P 28 | — | — | — | — | — | — |

**Quadro 26**

Sôro agglutinante P 13 (*Pullorum* gazogeno). Coelho 8956. Titulo 1/20000.

| | ABSORVIDO POR | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Provado com | *Pullorum* gaz — | | *Pullorum* gaz + | *Intermedius* | *Gallinarum* gaz — | | *Gallinarum* gaz + |
| | P 1 | G 39 | P 13 | P 14 | G 27 | G 30 | P 28 |
| P 1 | — | — | — | — | — | — | — |
| G 39 | — | — | — | — | — | — | — |
| P 13 | — | — | — | — | — | / | + 1/100 |
| P 14 | — | — | — | — | — | | — |
| G 27 | — | — | — | — | — | — | — |
| G 30 | — | — | — | — | — | — | — |
| P 28 | — | — | — | — | — | — | — |

**Qnadro 27**

Sôro agglutinante G 27 *(Gallinarum)*. Coelho 8968. Titulo 1 / 7500

| | ABSORVIDO POR | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Provado com | *Pullorum* gaz — | | *Pullorum* gaz + | *Intermedius* | *Gallinarum* gaz — | | *Gallinarum* gaz + |
| | P 1 | G 39 | P 13 | P 14 | G 27 | G 30 | P 28 |
| P 1 | — | — | — | — | — | — | — |
| G 39 | — | — | — | — | — | — | — |
| P 14 | — | — | — | — | — | — | — |
| P 13 | — | — | — | — | — | — | — |
| G 27 | — | — | — | — | — | — | — |
| G 30 | — | — | — | — | — | — | — |
| P 28 | — | — | — | — | | — | — |

**Quadro 28**

Sôro agglutinante P 28 + (*Gallinarum* gazogeno ?). Coelho 7321. Titulo 1/2000.

| | ABSORVIDO POR | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Provado com | *Pullorum* gaz — | | *Pullorum* gaz + | *Intermedius* | *Gallinarum* gaz — | *Gallinarum* gaz + |
| | P 1 | G 39 | P 13 | P 14 | G 27 | P 28 |
| P 1 | — | — | — | — | — | — |
| G 39 | — | — | — | — | — | — |
| P 13 | — | — | — | — | — | — |
| P 14 | — | — | — | — | — | — |
| G 27 | — | — | — | — | — | — |
| G 30 | — | — | — | — | — | — |
| P 28 | + 1/200 | + 1/200 | + 1/200 | + 1/800 | + 1/1650 | — |

**Quadro 29**

Sôro agglutinante P 14 (*Intermedius*).

| | ABSORVIDO POR | | |
|---|---|---|---|
| Provado com | *Pullorum* gaz — | *Gallinarum* gaz — | *Gallinarum* gaz + |
| | G 39 | G 30 | P 28 |
| P 1 | | — | — |
| G 39 | — | — | |
| P 13 | — | — | — |
| P 14 | — | + 1/20 | — |
| G 30 | — | — | — |
| P 28 | — | — | — |

**Quadro 30**

Sôro agglutinante G 39 (*Pullorum* não gazogeno). Coelho 8975. Titulo 1/20000.

| Provado com | ABSORVIDO POR | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | *Pullorum* gaz — | | *Pullorum* gaz + | *Intermedius* | *Gallinarum* gaz — | | *Gallinarum* gaz + |
| | P 1 | G 39 | P 13 | P 14 | G 27 | G 30 | P 28 |
| P 1 | — | — | — | — | — | — | — |
| G 39 | — | — | — | — | — | + 1/100 | — |
| P 13 | — | — | — | — | — | — | — |
| P 14 | — | — | — | — | — | — | — |
| G 27 | — | — | — | — | — | — | — |
| G 30 | — | — | — | — | — | 1 400 | — |
| P 28 | — | — | — | — | — | — | — |

Duas questões não ficaram convenientemente esclarecidas: a presença de um antigeno especial no typo *pullorum*, visto por Aoki e collaboradores, e a affinidade entre os germens do grupo *pullorum-gallinarum* e a *S. paratyphi*. Segundo Kauffmann, cujo eschema de divisão sôrologica das salmonellas foi integralmente acceito pela Sub-Commissão de Nomenclatura das Salmonellas, não existe qualquer affinidade sôrologica entre *S. paratyphi* (*B. paratyphosus* A) (antigenos I, II e "a") e o grupo *pullorum-gallinarum* (antigeno IX, unico). Vê-se, pelo quadro acima, que numerosas de nossas amostras reagem, embora fracamente, no sôro obtido com a amostra "Tunis" de Kauffmann, assim como emulsões desta são parcialmente agglutinadas nos sôros *pullorum-gallinarum*. A este respeito, não foram feitas provas de saturação de agglutininas.

Por outro lado, dada a absoluta identidade antigenica observada por nós em nossas amostras, incluindo todos os typos do grupo, não nos parece provavel existir uma estructura antigenica especial nos typos *pullorum*.

## RESUMO

Foram examinadas 38 amostras de germens do grupo *pullorum-gallinarum*, de origem européa, americana ou isoladas no Brasil, acompanhadas bacteriologicamente durante 3 annos, na fixidez de suas propriedades ou na possibilidade de sua transformação dum typo em outro.

*a*) Distinguiram-se no estudo das propriedades cinco typos de germens no grupo *pullorum-gallinarum* - 1) *pullorum* gazogeno, 2) *pullorum*

não gazogeno, 3) *intermedius*, 4) *gallinarum* ou *intermedius?* gazogeno, 5) *gallinarum* não gazogeno. Os 2 primeiros e o 5.º já bem conhecidos e acceitos; o 1.º admittido por Beck & Eber, em 1929, o 3.º evidenciado por nós em 1935.

*b*) O typo *gallinarum* gazogeno deve ser mais propriamente talvez considerado como typo *intermedius* gazogeno a vista de sua acção sobre sorbita e a xylose e sobre o meio de Jordan.

*c*) O quadro final resume as caracteristicas mais importantes destes cinco typos, baseando-se a differenciação principalmente na alteração do vermelho neutro, na producção de $H^2S$, na fermentação de glycerina, rhamnose, xylose, dulcita, sorbita e maltose, na acção sobre o tartaro, ná producção de gaz e no aspecto das colonias na superficie de certos meios de cultura.

*d*) Outras propriedades biologicas examinadas — acção sobre o leite, sôro de leite, dextrina, etc., admittidos por varios pesquizadores na differenciação, parecem distituidas de valor.

*e*) As amostras mantiveram fixas as suas propriedades durante todo o tempo em que foram acompanhadas. A hypothese de uma possivel transformação de um typo em outro não foi confirmada em nenhuma das amostras estudadas, justificando a entidade dos varios typos admittidos.

*f*) Discrepancias observadas na fermentação da maltose, referidas por varios pesquizadores com germens desse grupo, não foram confirmadas no presente trabalho.

*g*) Encontrou-se no sôro sanguineo um factor capaz de transformar a maltose em glycose, tornando aquelle assucar fermentescivel. Essa substancia é thermo-estavel e resiste á acção de substancias antidiastasicas.

*h*) A analyse sôrologica das amostras estudadas não permittiu differenciar os typos entre si.

## REFERENCIAS

Aoki, K.

1928. Ueber die immunisatorische Beziehung zwischen den Typhusbazillen einerseits und die Hühnertyphus-Pullorum-Bazillen andererseits. Cent. Bakt. **107** : 324.

Beaudette, Fr.

1925. The possible transmission of fowl typhoid through the egg. Jl. of Amer. Vet. M. Ass., **67** : 741.

BEAUDETTE, FR., BUSCHNELL, L. D. & PAYNE, L. F.

1923. Study of an organism resembling Bact. pullorum from unabsorved yolk of chicks «dead in shell». Jl. of Inf. Dis., **32** : 124.

1923. Relation of Bact. pullorum to hatchability of eçcs. Jl. of Inf. Dis., **33** : 331.

BECK & EBER, R.

1929 Bakterielle weisse Ruhr der Kücken. Arch. f. wissensch. u. prakt. Tierheilk., **56** : 77.

1929. Die wichtigsten bakteriellen Hühnererkrankungen. Zeitschr. f. Inf. d. Haust., **55** : 77.

BELLER

1926. Bakterielle Kückenruhr (sog. weisse Ruhr) und ihre Beziehungen zum Hühnertyphus. Arb. a. d. Reichsgesundheitsamt., **57** : 462.

CERNEAIANU & POPOVICI

Quoted by VACCARO — B. pullorum au Chili. C. R. S. Biologie, **110** : 629.

CILLI, V.

1932. L'analisi dei reccetori somatici nelle metasalmonelle aviarie. Bol. Inst. Sierot. Milanese, **5** (2) : 359.

CLARK, W. M. & LUBS, H. A.

1915. The differentiation of bacteria of the Colon-aerogenes family by the use of indicators. Jl. Inf. Dis., **17** : 160.

DONATION, A., PLANTUREUX E. & LESTOQUARD, F.

1924. La typhose aviaire en Algerie. Rev. Gén. de Med. Vét., **33** : 65.

EDINGTON, J. W.

1924. The bacteriological study of Fowl typhoid and allied infections, with special reference to three epidemics. Jl. of Path. a. Bact., **27** : 427.

EDWARDS, P. R.

1928. The fermentation of maltose by Bacterium pullorum. Jl. of Bact., **15** : 235.

1932. A variante occurring naturally in cultures of Salmonella pullorum. Jl. of the Am. Vet. Med. Ass., **33** : 891.

EHRLICH, D.

1925. Ueber Hühnertyphus und einige Fälle von Hühnerparatyphus. Deut tierärztl. Woch., 627.

GAGE, E. E.

1911. Notes on ovarian infection with Bact. pullorum (Rettger) in the domestic fowl. Jl. of Med. Res., **24** : 491.

GOLDBERG, S. A.

1917. A study of the fermenting properties of Bact. pullorum (Rettger) and Bact. sanguinarum (Moore). Jl. of the Am. Vet. Med. Ass., **51** : 203.

GRESSEL,

1927. Vergleichende Untersuchungen über das Bact. paradysenteriae (Bact. gallinarum Klein, Bact. sanguinarum Moore, Bact. typhigallinarum alcalifaciens Pfeiler). Deutsche Tierärzt. Woch., 267.

1928. Zur Differenzierung des Bact. pullorum Rettger) vom Bact. paradysenteriae (Bact. gallinarum Klein, Bact. sanguinarum Moore, Bact. typhigallinarum alcalifaciens Pfeiler). Deutsche Tierärzt. Woch., **281**.

GUERBERT, M.

1911. Étude de la réaction du rouge neutre au point de vue chimique. C. R. S. Biologie, **70** : 514.

GUENTHER, K,

1933. Vergleichende Untersuchungen über das Bact. pullorum Rettger 1909 das Bact. gallinarum Klein, 1889. C. f. Bakt. O., **128**, 1927.

HADLEY, P.

1918. R. I. Exper. Sta. Bull. **64**

1919. The diagnosis of fowl-cholera and fowl-typhoid infections in domestic birds. Jl. of the Am. Vet. M. Ass., **55** : 186.

HALLÉ & DISSARD,
Ref. de ROCHAIX & DUFOURT (1910) — *loc. cit.*

HADLEY, ELKINS & CALDWELL

R. I. Agr. Exp. Sta. Bull., **174**.

HENDRICKSON, J. M.

1927. The differentiation of Bact. pullorum (Rettger) and Bact. sanguinarum (Moore). Jl. of the Am. Vet. M. Ass., **70** : 629.

HOLT-HARRIS, J. E. & TEAGUE, O.

1916. A new culture medium for the isolation of Bacillus typhosus from stools. Jl. Inf. Dis., **18** : 596.

KAUFFMANN, KAUPP, B. K. & DEARSTYNE, R. S.

1925. The differential diagnosis of fowl-typhoid. Jl. Am. Vet. M. Ass., **78** : 249.

KLEIN, E.

1889. Ueber eine epidemische Krankheit der Hühner, verursacht durch einen Bazillus — *Bacillus gallinarum*. C. f. Bakt. O., **5** : 689.

KLIMMER, M. & HAUPT, H.

1927. Ueber Infektion von Hühnern mit dem Bakterium gallinarum Klein. C. f. Bakt. O., **105** : 99.

KONNO, T.

1929. Japanische infektiöse Diarrhea « Kiifun » (Bazilläre weisse Ruhr der Kücken in Japan). Deut. Tier. Woch., 482, 1929.

KRAUS, E. J.

1919. Zur Kenntniss des Hühnertyphus. C. f. Bakt. O., **82** : 282.

KRUMWIEDE, C. & KOHN, L.

1917. The differentiation of the members of the paratyphoid-enteritidis group from B. typhosus, with special reference to anaerogenic strains, and observations on the fermentative characteristics of the avian group. Jl. Med. Res., **36** : 509.

LERCHE

1929. Die bakterielle weisse Ruhr der Kücken. Ztschr. f. Infkh. der Haust., **55** : 139.

MALLMANN, W. L.

1929. Salmonella pullorum in the intestinal contents of babby chicks. Jl. of. Inf. Dis., **46** : 16.

1931. Use of organic acids for differentiation of Salmonella pullorum and S. gallinarum. Proc. Soc. exp. biol. a. Med., **28** : 501.

MALLMANN, W. L., THORP, JR. F. & SEMMES, M.

1928. A medium for the isolation of Salmonella pullorum and other members of the paratyphoid group from avian tissues.. Jl. Am. Vet. M. Ass., **73** : 825.

MANNINGER, R.

1928. Untersuchungen über Kückenruhr und Hühnertyphus. Ztschr. f. Infekh. d. Haust., **36** : 265.

MATHEWS, F. P.

1926. The agglutinative and antigenic properties of Salmonella pullora and Eberthella sanguinaria. Jl. Am. Vet. M. Ass., **69** : 371.

1927. Factors influencing the control of Bacillary white Diarrhéa. Jl. Am. Veter. M. Ass., **71** : 585.

MAY, H. G. & GOODNER, K.

1927. Cultural and antigenic studies on S. gallinarum and S. pullorum. Jl. of Bact., **13** : 129.

Miessner, H. & Berge, R.

1928. Die weisse Ruhr der Kücken. Deut. Tier. Woch. Festsch. zur Jubiläumsfeier der Tierarztschul., Hannover, 44.

Moore, V. A.

1895. A stody of a bacillus obtained from three outbreaks of fowl-cholera. U. S. Dept. of Agr., Bureau of An. Ind., Bull. n.º 8.

Mulsow, F. W.

1919. The differentiation and distribution of the paratyphoid enteritidis group. VI — Avian paratyphoid bacilli: A comparative study of B. pullorum and B. sanguinarum. Jl. of Inf. Dis., **25** : 135.

Pacheco, C. & Mello, T.

1932. Novo methodo para pesquisa do hydrogenio sulfurado nas culturas bacterianas. Ann. Fac. Med. de São Paulo, **8**.

Pfeiler, W.

1921. Identitätsnachweis für den Erreger der Kleinschen Hühnerseuche und dem Pfeiler-Reseschen Hühnertyphus-Bazillus. C. f. Bakt., **85** : 193.

Pfeiler, W. & Hoepke

1917. C. f. Bakt. O., **79** : 125.

Pfeiler W. & Standfuss, R.

1919. Kasuistische, bakteriologische, pathologisch-anatomische sowie experimentelle Untersuchungen über Hühnertyphus. Arch. f. Tierhk., **45** : **163**.

Plasaj, S.

1931. Cent. f. Bakt. Ref.

Rebrassier, R. E.

1926. Studies of Salmonella pullora. Jl. of the Am. Vet. Med. Ass., **73** : 603.

Rettger, L. F.

1900. Septicemia among young chickens. The N. Y. Med. Jl., **71** : 803.

1901. Septicemia among young chickens. The N. Y. Med. Jl. **73** : 267.

1909. Further studies on fatal septicemia in young chickens. Jl. of Med. Res., **21** : 115.

1914. Ovarian infection in the domestic fowl and the direct transmission of the disease to the offspring. Jl. of Exp. Med., **19** : 552.

Rettger, L. F. & Harvey, S. C.

1908. Fatal septicemia in young chickens, or white diarrhea. Jl. of Med. Res., **18** : 277.

RETTGER, L. F., HULL, F. G. & STUERGES, W. S.

1916. Feeding experiments with Bacterium pullorum. The toxity of infected eggs. Jl. of Exp. Med., **23** : 475.

RETTGER, KIRCKPATRICK & STONEBURN

1912. Con. Storrs Agr. Sta. Bull., **74**.

RETTGER, L. F. &OSER, S. A.

1917. A comparative study of. Bact. pullorum (Rettger) and Bact. sanguinarum (Moore). Jl. of Med. Res., **35** : 443.

RETTGER, L. F. & STONEBURN, F. H.

1909. Bacillary white diarrhea of young chicks. Con. Storrs Agric. Exp. Sta. Bull., **60**.

1911. Bacillary white diarrhea of young chickens. Con. Storrs Agric. Exper. Sta. Bull., **68**.

ROCHAIX, A. & COUTURE, E.

1933. Au sujet de quelques souches de Bacterium pullorum. C. R. S. Biol., **114** : 647.

ROCHAIX, A. & DUFOURT

1910. Remarques sur l'action du neutral-rot. C. R. S. Biol., **69** : 314.

1910. Signification de la réaction du neutral-rot. Essai sur son mechanisme. C. R. Soc. Biol., **68** : 326.

RODRIGUES C.

1931. Acção do Bacillo « E » de Kruse sobre os tartaratos. Arch. do Inst. Biol., **4** : 17.

ROTHBERGER, C. J.

Differentialdiagnostische Untersuchungen mit gefärbten Nährboden. C. f. Bakt. O., **24** : 513.

SCHAEFFLER, W.

1900. Das Neutralroth als Hilfsmittel zur Diagnose der Bacterium coli. Cent. f. Bakt., **28** : 199.

ST. JOHN BROOKS, R. & RHODES, M.

1923. The organismus of the fowl typhoid group. Jl. of Path. a. Bact., **26** : 433.

SMITH, T. & TEN BROECK, C.

1915. A note on the relation between B. pullorum (Rettger) and the fowl typhoid bacillus (Moore). Jl. Med. Res., **31** : 547.

SPRAY & DOYLE

1921. Jl. of Inf. Dis., **28** : 47.

SPRAY, R. S.

1932. A coagulable sugar — free basis for fermentation studies. 33th. annual Meeting of the Society of American Bacteriologists, Dec. 1931. Jl. of Bact., **23** : 43.

TAKAIANAGI, G.

1926. Ueber die Beziehung der Hühnertyphusbazillen gegenüber Menschentyphusbazillen. C. f. Bakt. O., **98** : 61.

TAYLOR, N. J.

1916. A report upon an outbreak of fowltyphoid. Jl. of the Am. Vet. Med. Ass., **49** : 35.

THOMPSON, L. R.

1920. Advantages of solid paraffin for sealing anaerobic fluid cultures. Jl. of. Inf. Dis., **28** : 240.

TILLEY

Quoted by Pacheco & Mello.

TITTSLER, R. P.

1930. Reduction of nitrates to nitrites by Salmonella pullorum and Salmonella gallinarum. Jl. of Bact., **19** : 261.

1931. The effect of temperature upon the production of hydrogene sulphide by Salmonella pullorum. Jl. of. Bact., **21** : 111.

TRUCHE, G.

1923. De la typhose aviaire. Ann. de l'Institute Pasteur, **37** : 478.

VACCARO, A.

1932. Infection des poules á Bacille pullorum au Chili. Compt. R. S. Biol., **110** : 629.

**Estampa 1**

Colonia typica (P 25, typo *intermedius*).
Typical colony (P 25, *intermedius* type).

**Pacheco & Rodrigues:** Grupo *pullorum-gallinarum.*
*pullorum-gallinarum* group.

**Estampa 2**

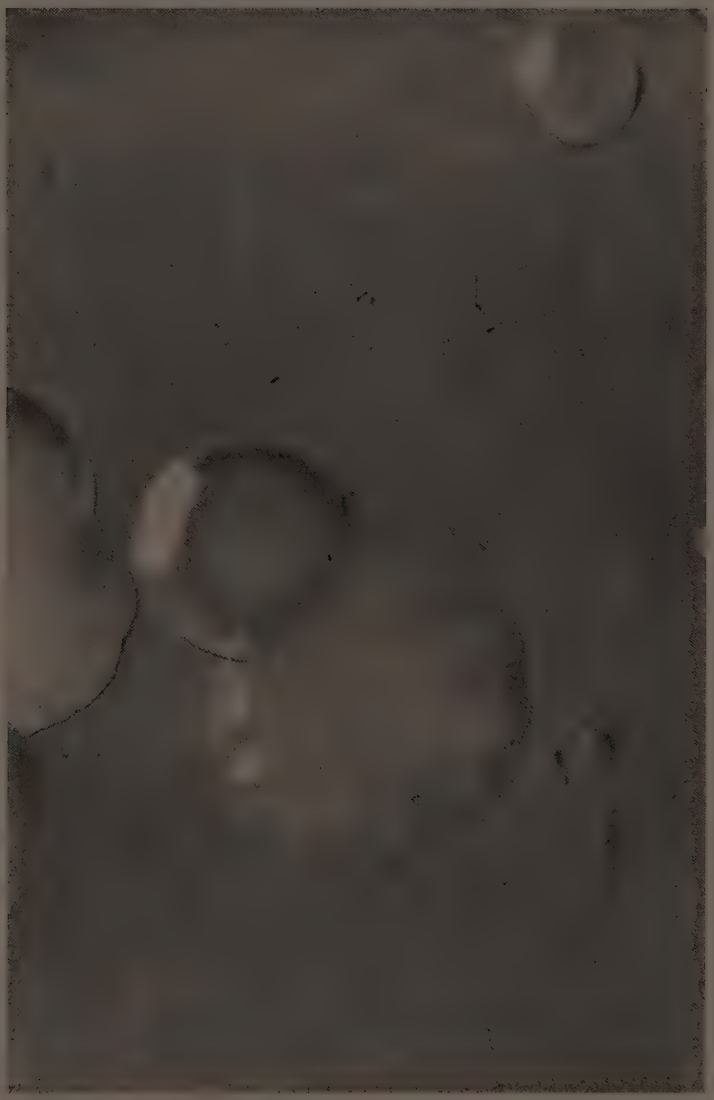
3 colonias typicas ao lado de uma atypica, mucoide, numa phase inicial de transformação (amostra P 25).

3 typical colonies and 1 atypical colony, mucoide, in inicial phasis of transformation (P 25).

**Pacheco & Rodrigues:** Grupo *pullorum-gallinarum.*
*pullorum-gallinarum* group.

**Estampa 3**

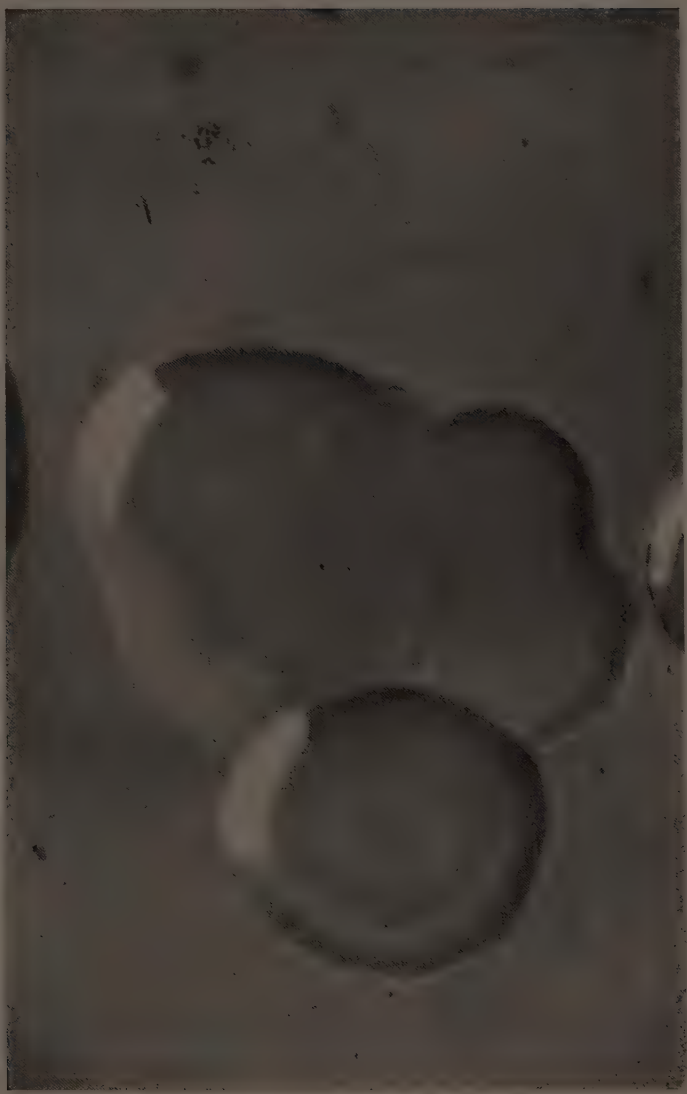
Colonia typica ao lado de uma atypica, mucoide (P 25).
Typical colony and atypical, mucoid colony (P 25).



**Pacheco & Rodrigues:** Grupo *pullorum-gallinarum.*
*pullorum-gallinarum* group.

**Estampa 4**

Colonias em vias de transformação mucoide, estado intermediario (P 25). Mucoid transformation (intermediate stage, P 25).



Pacheco & Rodrigues: Grupo *pullorum-gallinarum.*
*pullorum-gallinarum* group.

**Estampa 5**

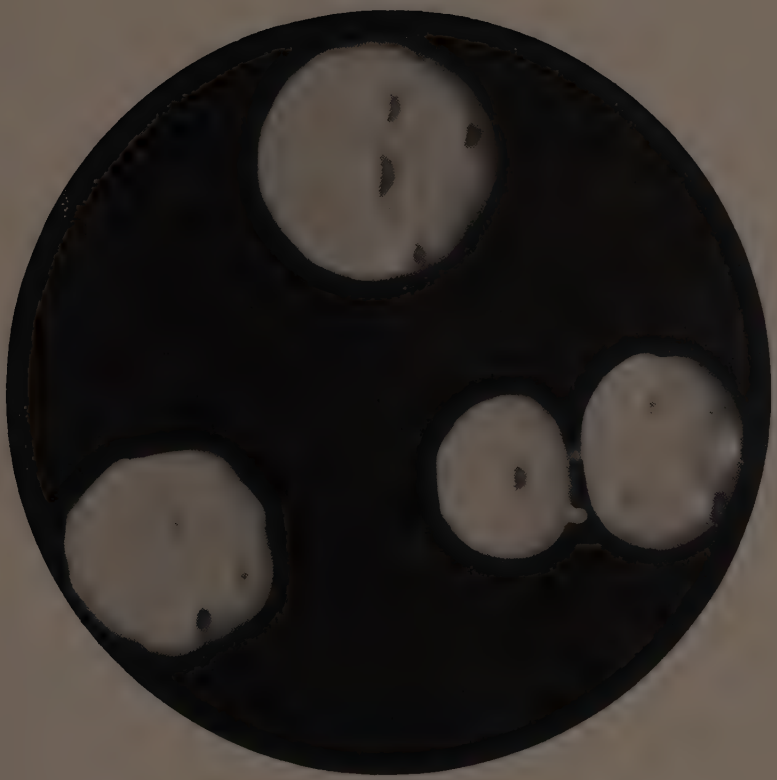
Transformação mucoide progressiva (P 25).
Mucoid progressive transformation (P 25).

**Pacheco & Rodrigues:** Grupo *pullorum-gallinarum*.
*pullorum-gallinarum* group.

**Estampa 6**

Colonias redondas com colonias filhas (P 14, typo *intermedius*), em placa com meio de Drigalski-sobita, após 5 dias de cultura.

Round colonies, with daughter colonies (P 14, *intermedius* type), in Drigalski-sorbitol plate, 5 days old.



**Pacheco & Rodrigues:** Grupo *pullorum-gallinarum*.
*pullorum-gallinarum* group.

# The *pullorum-gallinarum* group in comparative bacteriological tests

by

Genesio Pacheco and Celso Rodrigues

(With 6 plates and 2 graphics)

The etiologic agent of fowl typhoid was described by Klein in 1889 under the name of *Bacterium gallinarum*. Klein's incomplete report called forth a new description of the germ in 1895 by Moore, under the name of *Bacterium sanguinarum*, and another one by Pfeiler in 1917, the *Bacterium gallinarum alcalifaciens*. Later renewed verifications have shown that these three denominations apply to the same bacterium.

As to white diarrhea, the attention of the investigators was drawn to it at the end of the last century because then, it seriously affected the incipient industrial rearing of poultry in the U. S. A. In consequence, of the works of American investigators, especially of Rettger and his collaborators, it became possible to determine the causative agent of the disease described by Rettger and Harvey, the *Bacterium pullorum*. This germ and the disease caused by it were the subject of detailed studies, carried out mainly at the Experimental Station of Storrs, U. S. A., between 1900 and 1914. Owing to continuity of work, some essential questions about the pathogeny of the germ could be resolved: its infecting power also on full-grown fowl, rôle of the latter as repository of virus in consequence of a chronic infection of the ovary leading to contamination of the contents of the egg before it is laid, and birth of an already contaminated chicken; finally, the existence of two types of *Bacterium pullorum*, differing culturally, one gazogenic and the other non-gazogenic. Along with the process of bacteriologic knowledge of this germ as well as of fowl typhoid, the antigenic identity of both and the bacteriologic similarity of the non-gazogenous type of *B. pullorum* with that of *B. gallinarum*, led a number of investigators to admit that these germs were different types of one and the same species, in support of which theory the following points were given: 1) by verifications of the possibility of transforming one gazogenic *pullorum* type into another non-gazogenic one and vice-versa; 2) by irregularities of maltose fermentation used for the differentiation of both germs: *pul-*

*lorum* and *gallinarum*; 3) and by the possibility of infecting by them both hens and chickens. Such tendency assumed a definitive character when, at the Meeting of the Veterinary Congress of London 1930, the opinions were favourable to assemble in one single species the types described as the causative agents of chicken diarrhea and of fowl typhoid.

Having isolated in 1930, from a Leghorn chicken at a farm in São Paulo, Brazil, a sample of the non-gazogenic *pullorum* type, we resolved to study it for a long period in order to hit upon any modification in its features along with numerous strains of *pullorum* and *gallinarum* types, both gazogenic and non-gazogenic, obtained from several European and American investigators. Our studies consisted, essentially, in examining periodically, during three years, the cultural features of every strain.

From the beginning, two traits riveted our attention: the possibility of transforming a gazogenic type of *pullorum* into another non-gazogenic one and *vice-versa*, and the possibility of an irregular action upon maltose. Now, these being two essential features in the characterization of the three different types admitted up to that time, it was important to determine with regard to their fixity or variability, at least from the bacteriologic standpoint, whether one might give credit, or not, to the individuality of the species or types of the *pullorum-gallinarum* group.

## MATERIAL STUDIED

We collected 37 samples, of which three were isolated in Brazil and the remaining in U. S. A. or Europe. Their list follows herewith along with their origin and preceded by the denomination we gave them:

*a*) Received from prof. De Blieck, from « Institut voor parasitaireen Infekteziete da Ryku Universiteit », Utreck, arrived in March 1930, labeled:

*G 36* — *Bacterium gallinarum* Klein, original;

*b*) Received from prof. Miessner, Hannover, in Abril 1930, labeled:

*P 28* — Stamm H 1.009 (gaz +)
G *28* — Stamm 485 (gaz —)
*P 26* — Stamm G 124 (gaz —)
*P 29* — Stamm Kuecken 493 (gaz —)

*c*) Received from Reichsgesundheitsamt, Berlin, in March 1930, labeled:

*P 24* — Stamm Ovar IV de Beller
*P 25* — Stamm Kuecken IV de Beller
*P 27* — Stamm Ovar Ausgang de Beller

*d*) Received from prof. Reese, Rijksseruminrichtung of Rotterdam, in the second term 1930, labeled:

*P 21* — *Pullorum* Flessmann
*P 14* — *Pullorum* Adelshof.
*P 10* — *Pullorum* Schiedam
*P 16* — *Pullorum* Voort
*P 7* — *Pullorum* Broos
*P 20* — *Pullorum* Thyn
*P 13* — *Pullorum* Keyser

*e*) Received from prof. Goodner of the Agricultural Experiment Station, Rhode Island State College, U. S. A.; the indications were extracted from the Jour. of Bact., V. 13, pag. 130, labeled:

*P 4* — *Pullorum* 12 (sent by Gage to the Mass. Agr. Coll.; chicken residual yolk; received by him in 1915)
*P 5* — *Pullorum* 124 (sent by Rettger in 1916, under the name B' — 15)
*P 8* — *Pullorum* 125 (idem, idem, under the name R' — 15)
*P 19* — *Pullorum* 123 (idem, idem, under the name Cosgr.)
*P 9* — *Pullorum* 129 (sent by Gage in 1916, under the name W 1)
*P 11* — *Pullorum* 118 (sent by Hadley in 1915; « full-grown hen », New York)
*P 1* — *Pullorum* 122 (sent by Rettger in 1916, under the name A' — 16)
*P 12* — *Pullorum* 128 (sent by Gage in 1916, under the name T — 1)
*G 27* — *Gallinarum* 115 (sent by Th. Smith, in 1915, *Bacterium sanguinarum*, original of Moore)

*G 31* — *Gallinarum* 163 (sent by C. G. Bull under the name *B. avisepticus*, in 1917)

*G 29* — *Gallinarum* 207 (sent by Institut Pasteur of Paris, in 1920. Strain « Aube »)

*G 32* — *Gallinarum* 116 (sent by Th. Smith, in 1915, under the name F — T — II)

*G 30* — *Gallinarum* 206 (sent by the Institut Pasteur of Paris, in 1920, Strain « Seine et Meuse »)

*f*) Acquired from the American Type Culture Collection:

*P 2* — *Pullorum* 812; strain Allen of Buckley, isolated of hen ovarium)

*P 15* — *Pullorum* 813; strain Roman of Buckley, isolated of hen ovarium)

*P 3* — *Pullorum* 814; strain Covent of Buckley, isolated of blood from chicken.

*P 18* — *Pullorum* 819; strain W — 17 of Reitger

*P 6* — *Pullorum* 820; strain Ov. — B 26 of Buckley

*P 22* — *Pullorum* 815; strain Hatch of Buckley.

*P 17* — Included by mistake. It is the same as *P 3*.

*G 37* — *Gallinarum* 811; strain obtained from Buckley.

*g*) isolated in Brazil:

*G 33* — Isolated of a hen by Dr. Calazans, at 1927, in Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.

*G 34* — Idem

*G 39* — *Pullorum* gaz —, isolated of a hen by the AA at 1930, in São Paulo, Brazil.

We take this opportunity to express our gratitude to the above mentioned professors, for the kind remittance of cultures we solicited.

In accordance with the original informations the cultures quoted above were disposed in the following types:

1) *Pullorum*: P 24, P 25, P 27, P 21, P 14, P 10, P 16, P 7,

P 20, P 13, P 4, P 5, P 8, P 19, P 9, P 11, P 1, P 12, P 2, P 15, P 3, P 18, P 6, P 17.

2) *Gallinarum:* G 37, G 27, G 31, G 29, G 32, G 30, G 37, G 33, G 34.

3) *Pullorum* «sensu lato» (Miessner)[1]: P 26, P 28, P 29, G 28.

In the course of our investigations it was possible to distribute these and the Brazilian strains in four different groups, which we antecipate here for sake of clearness in the subsequent exposition:

1) *Pullorum* gaz —: P 1, G 39.

2) *Pullorum* gaz +: P 2, P 3, P 4, P 5, P 6, P 8, P 9, P 10, P 11, P 12, P 13, P 15, P 16, P 17, P 18, P 19, P 22.

3) The type named by us «*intermedius*»: P 7, P 14, P 20, P 21, P 24, P 25, P 26, P 27.

4) *Gallinarum:* P 29, G 27, G 28, G 29, G 30, G 31, G 32, G 33, G 34, G 36, G 37.

5) *Gallinarum* gaz + ?: P 28.

## TECHNICAL METHODS

Inicially we subjected these samples to an extensive bacteriological study, so that they would furnish a basis for posterior comparison. Employing always a standard method we have repeated periodically, during three years, so detailed an analysis as possible to survey any modification in their properties, occurred in the meanwhile.

## MORPHOLOGY

The morphological characteristics of the organisms here considered are of very little importance, because they do not differ from those of other bacteriae of the same genus and family.

Indeed, they revealed themselves uniform: little rods with rounded extremities, which do not retain the colour by the Gram method,

---

[1] In his letter which accompanied the samples quoted above, Prof. Miessner points out the impossibility of separing *pullorum* from *gallinarum* on the basis of their biochemical properties; and so, he withdraws his denomination *Bacterium paradysenteriae*, proposed for *gallinarum*, to avoid the conflict between the names given by Klein, Moore and Pfeiler. He prefers to unite under the name *Bacterium pullorum* all the components of the group, which are so considered as different types of the same species.

very often isolated, sometimes forming a chain of a few elements. In liquid cultures we can see small filaments, formed during a relatively short time.

The rods were usually very short, coccobacillar, sometimes more intensively stained at the extremities then in the center, a caracteristic which gives the appearance of a round vacuolus in the middle of the body. The larger forms had the extremities not so rounded and the bacillar body regularly stained.

## MOTILITY

We have used the classical method of direct vision of the bacterial displacement in a hanging drop, by the examination of recent cultures in pepton infusion broth, or the method proposed by Hitchens.

This consists in a stab culture in a 0.1 % semi-solid agar. Motility is characterized by the homogenous clouding of the whole medium in a short time. Absence of motility shows linear growth. This method was employed by Klimmer & Haupt (1929) to observe the motility of *pullorum* and *gallinarum* strains; the results were in accord with the classical examination of the hanging drop.

In our study we used a 0,3 % agar concentration, to obtain a more accurate result. Thus we could avoid the possibilities of mistake resulting from accidental shaking. The observations made with this medium are in accordance with Klimmer & Haupt's results, and are perfectly adjusted to the examination of motility, in this group. It has the advantage to avoid individual interpretations in the observation of such an important test. It will be noted that all our tests were made in cultures grown at 37° C.

Each one of the two employed methods permitted us to classify all the samples as non-motile, i. e., not displacing in the microscopical field, the rods remaining around a limited space with oscillatory molecular movements. Growth forming striae, without clouding, in the semi-solid agar of Hitchens, while control cultures of *Proteus*, and typhoid-paratyphoid group representative clouded it completely in 24 hours.

## MORPHOLOGY OF COLONIES

The colonies of *gallinarum* in solid media are in general bigger than those of *pullorum*, ought to their greater exuberancy. Taylor (1916) describes the colonies of *gallinarum* as round, smooth, large and convex, of finely granular texture, and of somewhat viscid consistency; those of *pullorum* were smaller and raised. His results were confirmed by

Goldberg (1917). Formerly, Beck & Eber (1917) treated the subject in a more extensive analysis. They found *gallinarum* colonies measuring 1 mm. in diameter, after 24 hours incubation at 37° C.; their colour was greyish white in the Drigalski's medium; *pullorum* formed smaller colonies, of 0,5 mm. in the same period of time; and they enlarged to 1 mm. or 1.5 mm., after 2-3 days. In accordance with their description the *pullorum* colonies would be like those of dysentery bacilli, the *gallinarum* colonies closer related to the *Salmonella*.

Lerche (1929) also describes carefully the aspect of colonies in agar. In his annotations he pointed out again that the colonies of *pullorum* are mostly very thin in this medium, showing the center plicated like a flower. He noticed also the late formation of definite small colonies over the agar slant induct, remembering contamination. The growth on agar was seen more vigorous by *gallinarum* than by *pullorum*.

Besides this reference of Lerche, we meet in the literature a more recent publication of Edwards (1932) about the production of daughter colonies by *pullorum*. This author verifies in 100 % of his stock cultures the late formation of secondary colonies on agar. He was able to isolate them so as to give a pure culture, which was not different from the original form, excepted the colonial aspect on agar. By means of bacteriophage he could also demonstrate that in spite of 80 replaintings the secondary culture contained yet some original bacteriae.

Another morphological particularity of the colonies is the formation of a mucous ring, found in *gallinarum* by Gressel (1927) and that could not be seen in *pullorum* by Miessner & Berge (1928).

This important feature of the colonies of the same representatives of the *Salmonellae* is considered by Lerche of little value in this case, because it appeared only in 13 from 67 samples he has studied; 6 of them were gazogenic.

* *
*

In reference to the aspect of colonies in selective media for *Eberthella* and *Salmonella*, besides what we have said above, regarding Beck & Eber's observations, Konno (1929) and Pfeiler & Standfuss (1919) have observed *gallinarum* producing blue colonies on the Drigalskis' medium and uncoloured colonies on Endo's medium. Lerche observes that *pullorum* forms in Drigalski's medium very small colonies, not visible to the naked eye in the first 24 hours, but some exceptional

samples, growing exuberantly, attain 3 and 4 mm. in diameter. They did not alter the blue tonality of the medium, or turned it slightly red.

In relation to the Gassner medium, Pfeiler & Standfuss verified that it is not suitable to the development of *pullorum*. Beck & Eber agreed with this opinion and obtained from *gallinarum* large colonies displaying a very distinct yellow colour. The type allied to *gallinarum* which does not attack maltose and has been described by these AA, forms light yellow colonies.

They found among the *gallinarum* strains some samples which formed large colonies like those of the genus *Escherichia (coli)* as much as smaller ones presenting the aspect of the colony formed by typhoid bacilli.

Recently (1923) Günther verifies also little development of *pullorum* in Gassner's medium, where their colonies are delicate and do not exceed 1 mm. in diameter, after many days of incubation, the medium forms both large and small colonies, whose biochemical characteristics place themselves in different types.

Our experience about not gazogenic *pullorum* in agar confirms absolutely those of other investigators; it produces constantly in this medium very thin colonies of slow development. But the strains of gazogenic *pullorum* which we have studied could not be differentiated from the types *intermedius* and *gallinarum*, as to the exuberance of growth. Among them it is very common to find an yellow prominent center or a depressed uncoloured rough one. These aspects are well visible from the third or fourth day of development in the incubator. The types *intermedius* and *gallinarum* do not present different colonies from those of *Salmonella paratyphi (B. paratyphosus* A) and the center remains always transparent and regular. It was difficult to differenciate something based upon the growth or agar-slant, excepting the strains of not gazogenic *pullorum*, which develops a delicate and finely granular film; all the other types have an exuberant and smooth growth.

In reference to the selective media, we first directed our attention to one which had not yet been employed in morphological studies of these colonies, that of Holt-Harris & Teague.

In this medium *pullorum* and the *gallinarum* produced colonies which present variations in their size, from 1,5 to 3,5 mm., within 72 hours; after 24 hours the colonies were smooth, round, convex, uncoloured, transparent or translucent, with a black or violet center and entire edges. There were some little differences from one colony to another, such as a slightly granular contexture, fringed edges, etc., which appeared sometimes in the same sample and culture place; variations

in size took place too, depending on their agglomeration. The not gazogenic *pullorum* was not studied in this medium.

Mallmann, Thorp & Sames did not mention the morphology of colonies in the medium they proposed in 1928, and which was intended for the isolation of *pullorum*; the medium contains brillant green in a proportion of 1/200.000, which hinders the contaminative vegetation. After 24 hours differential characteristics between the colonies of *pullorum* and *gallinarum* in this medium are observed: the intermediate type (uebergang), described by Beck & Eber, Klimmer & Haupt, appeared to be connected with the last.

The *pullorum* produces in Mallmann's medium small colonies as a dot punctiform, uncoloured, hyaline or opalescent, capitate, with smooth or slightly wrinkled surface; entire edges and homogenous or slightly granulous texture. Different is the appearance of *gallinarum*, which produce middle sized to large colonies, convex, brilliant, with smooth or slightly rough surface.

A sample of *pullorum* (P 11) presented the aspect described by Kraus in 1919, i. e., formation of concentric rings which gives to the colony a shell-appearance. Yet it seems to us that this aspect is only due to the fact that they lie too close together, at least in our case. Sometimes we find umbonate or very raised colonies in *gallinarum* and in the *intemedius* type.

Another medium employed for the study of colonies was the agar-egg, which we supposed to be suitable for selection. We tried an agar beef infusion to which was added 10 % egg-yolk, and brillant green to perform 1/200.000. Although we cannot through lack of sufficient experiments form any idea about its value as an isolation medium, the colonial aspect of pure cultures furnished us some interesting observations. We could frequently observe the wrinkled and dry aspect and the tendency to spread out presented by the colonies, ressembling that obtained from rough variants.

Here, more than in the above mentioned medium, the *pullorum* forms small colonies which are brillant and prominent; *gallinarum* has larger and more extensive colonies, which are rough and not brillant.

We have observed also the growth on litmus agar, prepared as follows: beef infusion agar at 2 % (pH 7.4) added with 1 % maltose Merck and 5 % Merck's azolitmin solution at 1 %. This medium, based on Drigalski's has by transparency a slight violet-blue colour. The *pullorum* colonies here are in general small, round, convex, hyaline, smooth, moist and glistening. In the same sample we may find exceptions, and some colonies were observed like those of *gallinarum*.

The simplest type of development is that given by the sample P 8 and P 3, for instance: its colonies are small, round, capitate, smooth, homogenous, opalescent or slightly granulous, in the center. They alkalise the medium. There was variation in P 10, P 12 and P 13 which presented an evident precipitate in the middle of the colony, which is umbilicate, but always small. G 39, not gazogenic *pullorum*, has a different behaviour. It forms large and flat colonies, smooth and opalescent, and present a small central precipitate.

The other not gazogenic strain, P 1, differs only because its colonies are raised and abrupt. So appear also the strain P 18 and P 22, both gazogenic.

All the *gallinarum* samples acidify the medium, as would be expected. They form large, uncoloured colonies, with central granulous precipitate, becoming more opacous when they grow older.

They are more capitate than convex, round, glistening, smooth or slightly wrinkled, presenting fringed or dented abrupt edges.

The variations of this standard type refer to the more deeply toothed edges, or the fine crenations like that observed in *pullorum* strains. Twice there appeared mucous colonies, observed in G 30 and G 26. P 29, another sample of *gallinarum*, produced small and round colonies completely hyaline with nearly entire edges, like those formed by *pullorum*.

The behaviour of the *intermedius* type is like that of *gallinarum*. Indeed, we observed extensive variations in the size of colonies on the same culture plate, what led us to study a number of them, to verify corresponding culture differenciations, which we could not find. Their colonies were firstly smooth, convex, nearly, capitate, of regular size. The medium was acidified. Between the third and the fifth days they attain the maximum development and begin to form regular blue, very delicate expansions, appearing to be diffused from under the edges, so disturbing the regular appearance of the colony. The center, at first homogenous and translucent, produces later on a precipitate which becames more and more deep and extends trough the whole colony, which giving an aspect that can be apreciated in the photos made with P 25, showing several phases of these transformations. (See phot. 1-5).

This mucous aspect was found in *gallinarum* by Pfeiler & Hoepke; their samples give colonies which have a tendency to join. But Gressels' and Lerche's opinion (1929), is that mucous colonies can only be observed in Gassner's plates.

Lastly we employed Gassner's medium, which should be preferred for the differentiations of *pullorum* and *gallinarum*; its composition

is lactose agar and two associated dyes Wasserblau and Metachromgelb », as indicators. Our observations are sometimes in accordance with those of the above mentioned investigators. Our experience has showed that *pullorum* colonies develop very well in this medium; *pullorum* gazogenic produces slightly yellow colonies; *pullorum* not gazogenic produces uncoloured or even sligthly blue colonies; the *intermedius* type presented itself like the *gallinarum*, which turned the medium really yellow.

* *
*

Noticeable in the colonial appearance is what we observed with a lead agar medium, suitable to verify the production of sulphyde gaz. Three of five *gallinarum* strains produced many exuberant secondary colonies in this medium. This was only observed with one sample of of *pullorum* and another of *intermedius*, out of twelve samples observed. The aspect recall that seen by Lerche in the growth on agar-slant and can be refered to the photograph included by Edwards (1932 in his monograph. More particularly suitable to the production of daughter colonies was the sorbitol-litmus-agar plate. Here we could observe these formations in the fifth day of culture, and this appeared almost constant in any type.

The colonial aspect obtained by Edwards standing from secondary cultures was seen spontaneously in agar-plates of the normal cultures; we could reinforce the observations of Edwards that this cannot be differentiated from the normal type by cultural reactions. (See phot. 6).

Summing up, it is not possible to extract from the morphological analysis of the above mentioned culture media a sufficient number of elements which would permit a typical distinction, between the various types. This analysis furnishes us, if it does, data which help somewhat a differentiation. We hav observed so many exceptions and so frequent anomalies with our small number of samples that any differentiation based upon these characteristics is very precarious.

*
* *

It is to be noted that we received from Prof. Miessner a strain (P 28) of the group recently pointed out by Beck & Eber (1929) and confirmed by Günther (1933). These AA have considered the new group as a gazogenic type of *gallinarum*. According to the caracteristics already

described here, this sample could not be differentiated from the non gazogenic type of *gallinarum* by all other properties, except gaz production.

## BIOLOGICAL TESTS

*Activity in the peptone-meat-infusion.* — Almost all AA agree in saying that these micro-organisms produce an uniform clouding of the broth. There are some disagreement, in reference to the production of pellicle, ring and sediment. Truche (1923) relates the formation of a ring by samples of *gallinarum*. Konno (1929) says in reference to his types A and B, which correspond both to *pullorum*, that they produce a pellicle. Kaupp & Dearstyne (1925) could see neither ring nor pellicle; Kraus (1919), Beaudette, Buschnell & Payne (1923) refer to the late production of a sediment.

All the samples we have studied presented moderate clouding of the nutrient-broth, within 24 and 48 hours, and after the fifth day the formation of a granular sediment with apparent but not complete clearing of the medium. This action is not peculiar to the peptone-meat-infusion, being also observed in the pancreatic broth. The production of a ring seemed frequent but not constant. Only once we observed a pellicle, never met with again, in a sample of *gallinarum*. May be some special physical conditions are necessary for this formation, because the culture in which we observed this phenomenon was certainly pure.

The growth at once in a granular sediment, without clouding of the broth, pointed out by Mathews (1926) in a sample of *gallinarum* and also by Konno in his type A of *pullorum*, may be due to the presence of rough types. Our samples P 1, P 3 and G 30, give sometimes this appearance.

*Indol production.* — We confirm the general accordance about this point. Carrying out, on 8 days culture of our samples, the Ehrlich method, we could not detect any indol formation.

### *Fermentative properties*

1) *Milk and litmus-whey (Petruschky medium).* — Respecting the group here studied nobody observed the clotting of milk but its transitory acidifications was described in *gallinarum* by Pfeiler & Hoepke (1917), Pfeiler & Standfuss (1919), and in *pullorum* by Buschnell & Payne

(1923), and by Spray & Doyle (1921). In accordance with these AA. acidification is almost always followed by alkalinization of the medium and Mulsow (1919) thinks that *gallinarum* produces more rapid alcalinity than *pullorum*. Manninger (1928) refers that Hadley found some samples of *pullorum* which were able to acidify the milk permanently. Pfeiler points out the existence of some samples of *gallinarum* which acidify it slowly. Manninger says that this property is not permanent. In 1921 their strains acidified milk, and in 1927 they induced a slow alcalinisation. The samples of *gallinarum* isolated in 1926 presented inicial acidification, followed by alcalinization, and the behaviour of the strains received from other laboratories that time was the same. From his study of this particularity, Manninger concludes that alcali production depends on vegetative energy, because all alcali-forming strains grew more strongly in culture media.

Referring to the milk-whey, Pfeiler & Standfuss say that it is almost always permanently acidified by *pullorum*; the *gallinarum* would present acid-alcali turning, and this is the reason for the denomination *B. typhi gallinarum alcalifaciens* given to it by Pfeiler. Beck & Eber (1927 and 1928) and Günther (1933) also observed the permanent acidification of this medium by *pullorum* and the acid-alcali turning by *gallinarum*. Miessner & Berge (1928) observed inicial acidification of the medium, followed by alcalinisation within 3 or 4 days, or a little later.

The milk, and the milk-whey we used were added with azolitmine Merck. There was constant and permanent acidification of those media by the strains that were observed, with the only exception of P 7 which produces alcalinization since the beginning of growth. We have observed a little frequency of acid-alcali turning; this alteration occurred sometimes very slowly, being observed after 30 ou 40 days of culture of 37°. It was not always produced at the same time in the Petruschky medium and the limus-milk, present sometimes in one while not obsered in the other. *Pullorum* and *gallinarum* had the same behaviour.

Comparing the variations observed in the litmus milk and in the litmus-whey during three years, we have verified many paradoxical results that may be explained by the inconstant composition of the media. Those disagreements have been already pointed out by Manninger. Therefore we do not reproduce the tables concerning those modifications. Our results do not agree with Günther's and Beck & Eber's recent observations, which ascribe to these media a useful help in the diagnostic of the types involved.

2) *Neutral red.* - Takaianagi (1926) and Cilli (1932) have made researches about the modifications of neutral-red in the characterization of *gallinarum*; they did not observe any alteration of this dye. Pfeiler & Standfuss, Kraus and Beck & Eber have made also experiments with neutral red. Beck & Eber observed that only the gazogenic *pullorum* produces fluorescence in Rothberger's medium, a characteristic that can be used for the differentiation from *gallinarum*. Recently, these last mentioned AA also described the gazogenic type of *gallinarum* which has the same behaviour in the neutral-red media as the gazogenic *pullorum*. We employed Rothberger's initial medium and several modifications.

At first we have prepared the medium of Rothberger according to Schaeffler's modification, i. e. adding to the 1 % dextrose broth a saturated solution of neutral-red, until we could obtain a cardinal-red colour (more or less 1/4.000), and also agar to make 1 %.

Growing in this medium all our strains were distributed into two groups closely related to the gazogenic capacity.

**Table 1**

Showing neutral red modifications (Rothberger-Schaeffler's medium).

| Type | Strain | 1 day | 5 days | 10 days |
|---|---|---|---|---|
| Not gazogenic *pullorum* | P 1 e G 39. | 0 | 0 | 0 |
| Gazogenic *pullorum* | P 2, P 4, P 5, P 6, P 8, P 9, P 10, P 11, P 12, P 13, P 15, P 16, P 18, P 19, P 22. | 0 | FG | FG |
| | P 3 e P 17. | 0 | 0 | 0 |
| *intermedius* | P 7, P 14, P 20, P 21, P 24. P 25, P 26, P 27. | 0 | 0 | 0 |
| *gallinarum* | P 29, G 27, G 28, G 33, G 30, G 31, G 32, G 34, G 36, G 37. | 0 | 0 | 0 |
| Gazogenic *gallinarum* ? | P 28. | 0 | 0 | FG |

*Remarks* — F, fluorescence; G, gaz; 0 unaltered.

Exception made of P 3, P 17, the capacity of fluorescence ran side by side with the gazogenous capacity, as seen by Beck & Eber, quoted above.

Therefore, we thought the phenomenon ascribable to the split-

Table 2

Showing neutral red modification in dextrose and maltose media.

| Type | Strain | Glycose | | | | | Maltose | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 d. | 2 ds. | 3 ds. | 5 ds. | 10 ds. | 1 d. | 2 ds. | 3 ds. | 5 ds. | 10 ds. |
| Not gazogenic *pullorum* | P 1, G 39 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Gazogenic *pullorum* | P 2, P 15 | 0 | 0 | fg | fg | fg | 0 | 0 | 0 | fg | fg |
| | P 3 | 0 | 0 | 0 | fg | fg | 0 | 0 | fg | fg | fg |
| | P 4 | g | fg | fg | fg | fg | 0 | fg | fg | fg | fg |
| | P 5, P 19 | 0 | fg | fg | fg | fg | 0 | 0 | 0 | fg | fg |
| | P 6, P 10, P 11, P 12 | 0 | 0 | fg | fg | fg | 0 | 0 | fg | fg | fg |
| | P 8, P 16 | g | fg | fg | fg | fg | 0 | 0 | fg | fg | fg |
| | P 9, P 22 | 0 | 0 | fg | fg | fg | 0 | 0 | 0 | fg | fg |
| | P 13 | 0 | 0 | 0 | fg | fg | 0 | 0 | 0 | fg | 0 |
| | P 17 | 0 | 0 | 0 | fg | fg | 0 | 0 | 0 | fg | fg |
| | P 18 | 0 | 0 | 0 | 0 | fg | 0 | 0 | 0 | fg | fg |
| *intermedius* | P 7, P 14, P 20, P 21, P 24, P 25, P 26, P 27 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *gallinarum* | P 29, G 27, G 28, G 29, G 30, G 31, G 32, G 33, G 34, G 36, G 37 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Gazogenic *gallinarum*? | P 28 | 0 | fg | fg | fg | fg | 0 | fg | fg | fg | fg |

*Remarks* — f, fluorescence; g, gaz; 0, unaltered.

ting of dextrose, down to hydrogen. We substituted it by maltose in the same proportion.

The analogy of the results reached with the two above mentioned carbohydrates, proves only that the transformation of the culture medium is due to a modification of the dye employed and not to the sugar splitting. In fact, maltose in the condition of the experiment is not destroyed by *pullorum*. The discrepance with the above mentioned strains were now desapeared. So it becomes clear that sugar splitting down to gas is not necessary for the production of fluorescence of the neutral-red, not even an incomplete unfolding; otherwise this could be supposed, since the first experiment, because the *gallinarum*, although it ferments glucose, does not provoce any modification of the neutral-red.

As the fluorescence is firstly observed in the lower part of the stab culture forming a high layer, we thought observing this phenomenon in high reductive media or in anaerobiosis, naturally with or without glucose which is a very well known reductive agent. We used 3 % peptone-water added with the dye.

To observe the alteration of neutral-red in anaerobiosis we used the medium without dextrose or with different proportions of it. The anaerobic culture-menstrui were covered before sterilization with solid vaseline which is sufficient to secure impermeability as demonstrated by Thompson in 1920, and frequently observed by us to.

We can see in table 3 that dextrose does not enhance, but perhaps hinders the appearance of fluorescence. Anaerobiosis favours in an evident manner the occurrence of this phenomenon.

We could not explain the inhibitory effect produced by glycose in experiment 3. Probably the acidification carried on by its fermentation is the actual impedient.

* *
*

Guerbert makes a chemical analysis of this phenomenon and he observes that fluorescence may result from the presence of ionized hydrogen, and therefore it is question of a reductive phenomenon. This does not mean that any reductive agent is able to produce fluorescence in the neutral-red. We employed several substances with this capacity and even the most energetic reductive agents as sodium sulphite do not determine the appearing of fluorescence.

The necessity of a high reducing power for the appearance of the

**Table 3**

Showing neutral red modification in aero-anaerobiosis, condition comparatively.

| Culture media | Without paraffine | | | | | | Under paraffine | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Dextrose | 0 o/o | | 1 o/o | | 5 o/o | | 0 o/o | | 1 o/o | | 5 o/o | |
| Time of incubation | 1 d. | 2 ds. | 1 d. | 2 ds. | 1 d. | 2 ds. | 1 d. | 2 ds. | 1 d. | 2 ds. | 1 d. | 2 ds. |
| *Salmonella schottmülleri* (*B. paratyphosus* B) | 0 | 0 | G | FG | G | FG | F | F | G | FFG | G | GG |
| *Aerobacter aerogenes* (*B. aerogenes*) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | F | FF | G | FG | G | G |
| *Proteus specimen* | F | F | FG | FG | G | FFG | FF | FF | FG | FFG | G | FG |
| *Escherichia coli* (*B. coli*) | 0 | 0 | G | G | G | G | FF | FF | G | FG | G | G |
| *Salmonella specimen* | 0 | 0 | G | FG | 0 | 0 | F | FF | G | FG | G | G |
| CONTRAPROVAS | | | | | | | | | | | | |
| *Shigella dysenteriae* (*B. dysenteriae* Shiga) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Shigella paradysenteriae* (*B. dysenteriae*, Flexner) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Salmonella typhosa* (B. typhosus) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

phenomenon reveals the advantage of anaerobiosis to hasten this portie of the bacteria.

With the experiments we made, so as to discover the nature of fluorescence, we arrived at the production of a medium in which the phenomenon is clearer and more quickly seen than in Rothberger's medium and its modifications, since we wish specially to observe fluorescence.

The gas production which is not related to this phenomenon and is not better observed in Rothberger'se medium did not interest us. The medium was prepared as follows:

| | |
|---|---|
| Peptone | 30 grs. |
| Water | 1000 c. c. |
| Sodium chloride | 5 grs. |

Dissolve by heating, adjust pH to 7,4. Add acquous solution of neutral-red Grübler at 1 %, 20 cc. Distribute in neutral glass test tubes. Pour over some melted solid neutral vaseline and sterilize at 110° C. for 30 minutes.

With this medium, we have made the analysis of the now studied strains, quoted in table 4.

**Table 4**

Showing neutral red modification in anaerobiosis condition, under paraffine.

| Type | Strain | 1 d. | 2 ds. | 3 ds. | 4 ds. | 10 ds. |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Not gazogenic *pullorum* | P 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | G 39 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Gazogenic *pullorum* | P 3 | 0 | F 1 | F 2 | F 4 | F 4 |
| | P 5 | 0 | F 3 | F 3 | F 4 | F 4 |
| | P 10 | 0 | F 1 | F 2 | F 3 | F 3 |
| | P 12 | 0 | F 2 | F 3 | F 3 | F 3 |
| | P 18 | 0 | F 1 | F 2 | F 3 | F 3 |
| | P 22 | 0 | F | F 2 | F 4 | F 4 |
| *Intermedius* | P 7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | P 14 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | P 21 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | P 24 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | P 27 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *gallinarum* | G 27 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | G 30 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | G 32 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | G 34 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | G 36 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Gazogenic *gallinarum*? | P 28 | 0 | F | F | F | F |

*Remarks* — F, fluorescence; nummers indicat intensity of reaction.

*All the* pullorum *gasogenic strains presented fluorescence, more or less rapidly. The Brazilian and American strains of non-gasogenic pullorum, P 1 and G 39, the strains received under the name of gallinarum, and those received from Europe under the name of pullorum which we have included among those of intermedius type, did not present fluorescence. These results were absolutely alike during all the time the strains were studied.*

3) *Hydrogen sulphide production.* — Truche found a higher production of $H^2S$ by *gallinarum*. Klimmer & Haupt ascribe to *pullorum* a larger formation; from 7 samples their type I, observed to present intermedial properties between *pullorum* and *gallinarum* there were four sulphide-formers. This is in accordance with Beck & Ebers experiments, and not with Beller's ones. Truche (1929) could not demonstrate the presence of hydrogen sulphide in *pullorum* cultures. Rochaix & Couture (1933) observed a very weak or even nul $H^2S$ formation, by cultures that they identify to *pullorum*, in that way confirming anterior observations of Vaccaro (1932). Tittsler (1931), quoted the irregular and incomparable results of a different AA., and searched for an explanation in the temperature of the experiment. He verifies that temperatures above 34° C. were inhibitory. Using 30-34° C., he observed a narrow correlation between $H^2S$ and fermentation up to gas.

We observed inicially the darkening of gelatin at 25° C. and also the action on the Bailey-Lacy's medium, which is described in Klimmer & Haupt's paper. Our results are quoted in Tables 5 and 6.

**Table 5**

**Darkening of gelatine by hydrogen sulphide.**

| Strain | Culture media | |
|---|---|---|
| | darkness | unaltered |
| Not gazogenic *pullorum* | 2 | 0 |
| Gazogenic *pullorum* | 17 | 0 |
| *intermedius* | 2 | 6 |
| *gallinarum* | 10 | 1 |
| Gazogenic *gallinarum*? | 1 | 0 |

Nummers shows strains used.

**Table 6**

$H^2S$ in Baley-Lacy medium.

| Strains | 1 d. | 2 ds. | 3 ds. | 5 ds. |
|---|---|---|---|---|
| Not gazogenic *pullorum* | | | | |
| P 1 | 0 | 0 | n | n |
| G 39 | 0 | 0 | 0 | n |
| Gazogenic *pullorum* | | | | |
| P 3, P 11 | 0 | 0 | n | n |
| P 5, P 10, P 2, P 22 | 0 | n | n | n |
| P 18 | 0 | 0 | 0 | n |
| *intermedius* | | | | |
| P 7, P 14, P 24, P 27, P 20 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *gallinarum* | | | | |
| G 30, G 31, G 32 | 0 | 0 | 0 | ± n |
| G 33 | 0 | 0 | 0 | n |
| CONTRAPROVAS | | | | |
| Not inoculated medium | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Salmonella schottmülleri* (*B. paratif.* B) | | | | |
| No. 690 | 0 | n | n | n |
| *Salmonella* (*Eberthella*) *typhosa* | | | | |
| No. 395 | 0 | 0 | 0 | 0 |

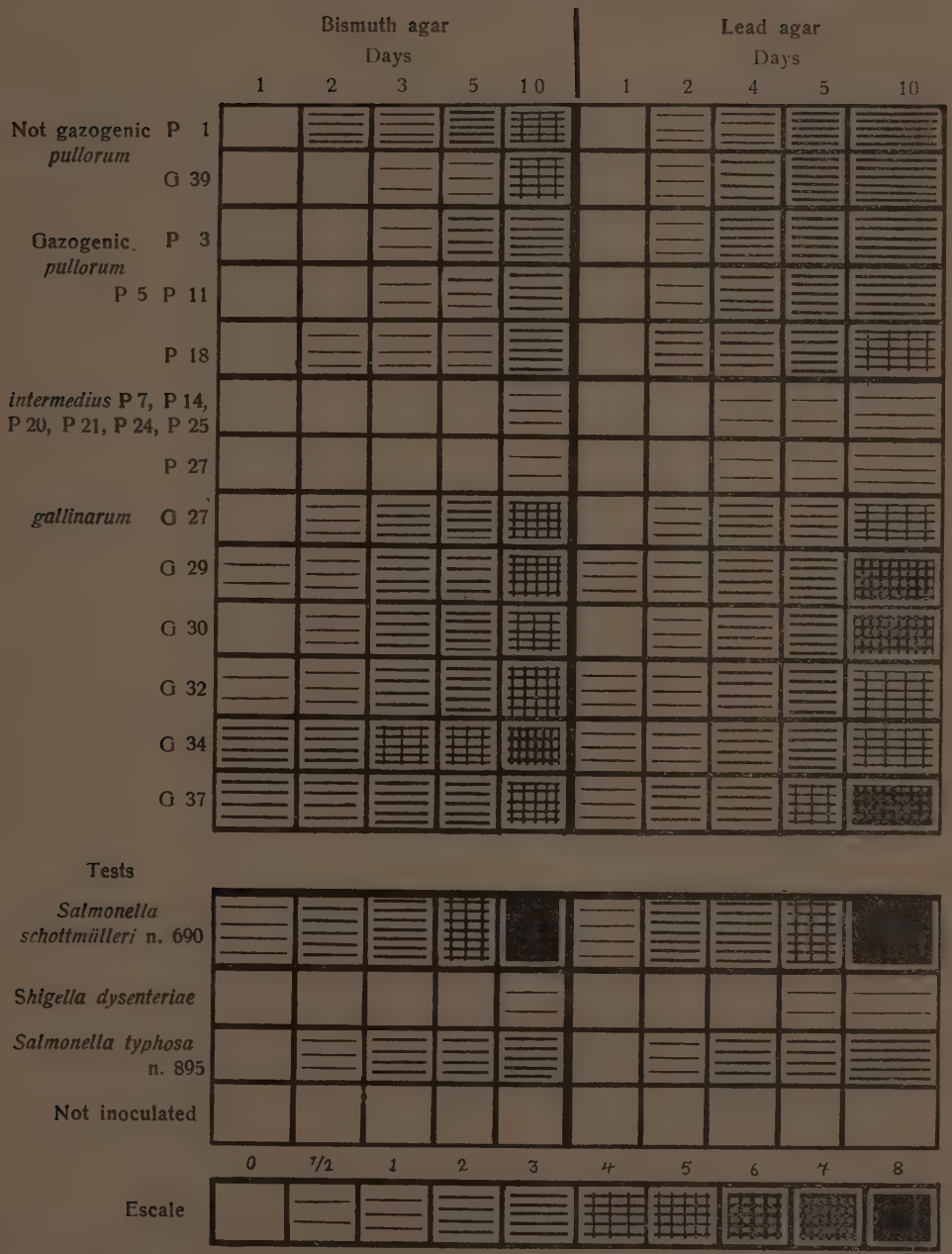
*Remarks* — n, darkning of medium; 0, unaltered.

The strains of *gallinarum* present in these media slight hydrogen sulphide formation. Gasogenic and non-gasogenic *pullorum* are high producers; the *intermedius* gave no evidence of formation.

Pacheco & Mello (1932) have proposed a sensitive method of research, using a semi-solid agar which has bismuth carbonate as index. We tried their original formula, and also the same added of cystine hydrochloric as a sulfur source, useful as quoted by Tilley.

For the sake of comparison we used also the lead acetate agar, the brain medium of Hibler and the Bacto peptone iron agar of the Difco Laboratories. Summing up, these different observations furnished us the necessary elements to conclude that:

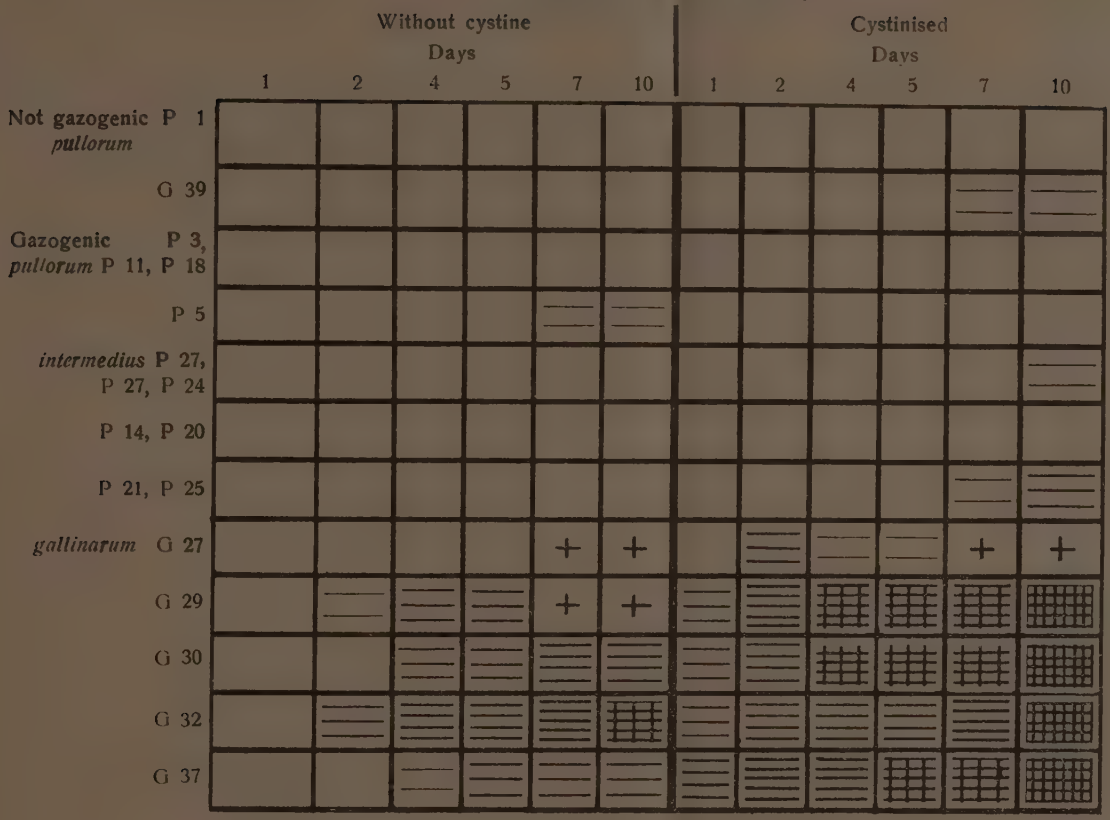
Graphic 1

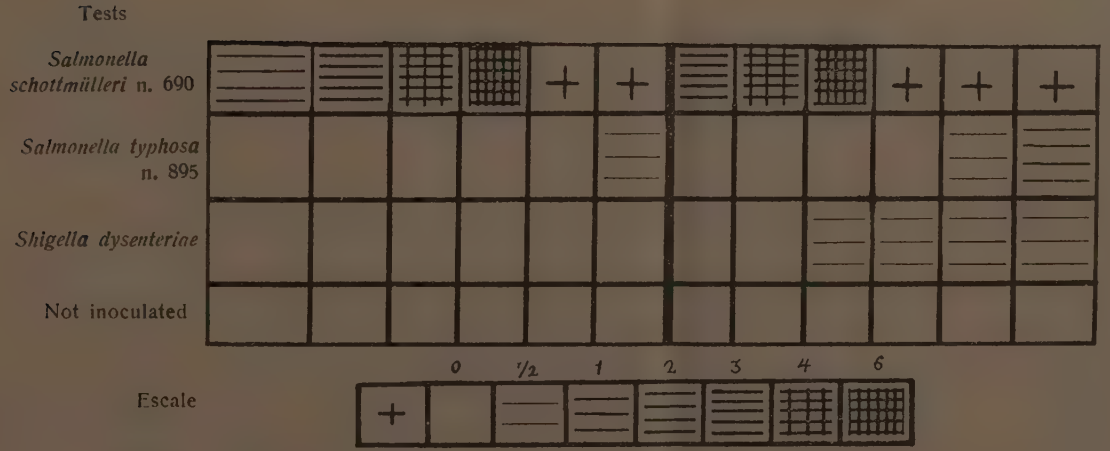



*Remarks* — 1-8 grades of darkness.

Graphic 2

Pacheco & Mello's medium.




*Remarks* — 1-8 grades of darkness, + results not seen.

1) Gasogenic and non-gasogenic *pullorum* produce in a short time $H^2S$ in the lead-agar, in Bayley-Lacy's medium, in gelatine and in the Bacto-peptone agar. In the Pacheco & Mello's medium, even after addition of cystine, almost no $H^2S$ could be detected.

2) *Gallinarum* produces a large amount of $H^2S$ in the cystinized medium of Pacheco & Mello, a little less in the original. Its capacity can also be detected by the lead-agar and the Bacto-peptone iron agar. Slow production in gelatine and in Bailey-Lacy medium.

3) *Intermedius* produces a small amount of $H^2S$ in the lead-agar, only sketching a darkening which appears slowly; it disturbs neither the Bailey-Lacy medium nor the Pacheco & Mello, this even when added with cystine, nor the Bacto iron peptone agar and the gelatine.

Table 7 is a summary of these results. The sample P 28, (gasogenic *gallinarum?*) was omitted in these experiments.

**Table 7**

**$H^2S$ production in various media comparatively.**

| Culture medium | *Pullorum* | | *Intermedius* | *Gallinarum* |
|---|---|---|---|---|
| | gazogenic | not gazogenic | | |
| Lead agar | + rapid | + rapid | ± slow | + rapid |
| Pacheco & Mello cystinised | — | — | ± slow | + actively rapid |
| Pacheco & Mello without cystine | — | — | — | + rapid |
| Bayley - Lacy | + rapid | + rapid | — | + slow |
| Gelatine | + rapid | + rapid | + slow ? | + slow |
| Brain | — | — | — | — |
| "Iron peptone" agar | + rapid | + rapid | — | + rapid |

A pecuniarity must be pointed out about the sulfurigenic property. It is its dependence on the medium we employ, according to which the results may be so modified as to appear inverted. Exception made of the bismuth medium, used only once, in the other media there was always observed the same behaviour. By their regularity and by the differences observed from group to group it appears that these tests are useful in the characterization. We did not remark the influence of temperature, important factor as quoted by Tittsler. The narrow correlation between gas-fermentation and $H^2S$ production could

not be verified in our cultures, maintained at 37° C. with the exception of gelatine.

4) *Reduction of nitrates to nitrites.* — Kaupp & Dearstyne have verified that *gallinarum* is a nitrate reducer, in opposition to the idea of Rettger. Tittsler (1930) could not distinguish by this test *pullorum* and *gallinarum*, because several strains of both showed activity, and others not. We have not a large experience, our tests having been made only in the beginning of this study. Then we used a nitrate peptone medium, tested after incubation with naphtilamine B and sulfanilic acid. From the 39 samples observed, more than 50 % showed themselves capable of reducing nitrates to nitrites, but they were distributed in the different groups, what is in accordance with Tittsler observations.

5) *Proteolytic action.* — The samples of the different types revealed themselves very constant in reference to its action on gelatine, in which they grow very well but without liquefying the medium. This verification is in accordance with the general opinion of investigators who treated the subject who say the medium is not disturbed by those bacteria.

6) *Carbohydrates fermentation-tests.* Although much less employed now as valuable element in the bacterial systematization, the fermentative capacity is a valuable index in the characterization of several species. For certain bacterial genera which have no other distinctive property to emphasize differentiation the sugar fermentation in the basis of systematization, i. e., the decisive proof.

This happened too with this group, until a little time ago. Moore (1895) could by the fermentative properties establish the first distinction between *gallinarum* and the causative agent of fowl-cholera.

Besides fermentation, the gas-formation had a great importance in the systematization of the group *pullorum-gallinarum*. Rettger (1908) first describes *pullorum* as being gasogenic. Rettger, Kirckpatrik & Jones (1913) observed the existence of not gasogenic samples in presence of any kind of sugar. These are in the litterature we have consulted the first references about the not-gasogenic *pullorum*.

Smith & Ten Broeck (1915) were the first who pointed out the fermentation of maltose to distinguish *pullorum* from *gallinarum*. They could ascertain that *Salmonella gallinarum (sanguinarum)* produces fermentation of maltose very quickly, while *S. pullorum* does it very slowly. At the same time they refer to inconstancy of gas production

by *pullorum*; they found some strains at first not gasogenic, which became later spontaneously gasogenic.

Rettger & Koser (1917) undertook a minute analysis of the differentiation between *pullorum* and *gallinarum* in reference to its fermentative action on several sugar varieties; they have studied maltose, dulcitol, dextrin, which were splitt by *gallinarum* and not by *pullorum*. This constant displaying of the fermentative property towards maltose allowed them to employ here the methyl red test proposed by Clark & Lubs for differentiation of the genera *Escherichia* and *Aerobacter*. *Pullorum* alcalize this medium, turning the methyl red yellow, while *gallinarum* acidify, maintaining it red. Rettger & Koser furnished also in this work some important data to differenciate *gallinarum* from *pullorum* in reference to the gas-formation. They study recently isolated strain of *pullorum*, together with others which had been artificially cultivated for 12 years, by fermentative tests in Durham's tubes; they were all clearly gasogenic, with the exception of one strain recently isolated, in all its characteristics identical to *pullorum* but not able to form gas. Nothwithstanding, they say that the gas production is a first class element in differentiation of the group *pullorum-gallinarum*, a characteristic which generally is peculiar to *pullorum*. In the same year Goldberg confirms Rettger's data about gas production and its constancy; this author has only found non-gas-forming one, but this one was also irregular in other reactions. In the same year, two other references of fermentative tests have been brought in. Pfeiler adds to the known sugar varieties attacked by *gallinarum* xylose and iso-dulcitol and sorbitol to those which are not attacked. Krumwiede & Cohn establish the clear positive fermentation of xylose by the group *pullorum-gallinarum*, and that iso-dulcitol is more energetically attacked by *pullorum*.

Other sugar species were studied for distinction *pullorum* from *gallinarum*; there are however some disagreement between the results observed. These we can see in Table 8, which contains a summary of the publications we have consulted. Lerche's resultes could not be tabulated, because he only takes into consideration the gas-production, the most important property according to him; he does not admit any significance to dulcitol-, maltose- and dextrin-fermentation.

**Table 8**

Carbohydrates fermentation show by various authors.

| Strains | Dextrose | Galactose | Inodulcitol | Mannitol | Sucrose | Dextrine | Dulcitol | Levulose | Mannose | Xylose | Arabinose | Maltose | Lactose | Raffinose | Sorbitol |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Not gazogenic *pullorum* | | | | | | | | | | | | | | | |
| May & Goodner 1927 | + | + | + | + | – | – | – | + | + | + | + | – | – | – | |
| Rebrassier 1926 | + | + | + | + | – | – | – | + | + | + | + | – | – | – | – |
| Gazogenic *pullorum* | | | | | | | | | | | | | | | |
| Beaudette, Bushnell & Payne 1923 | g | g | + | g | – | – | ± | g | g | g | g | ± | – | – | |
| Mulsow 1919 | g | 0 | g | | | ± | – | | | g | g | – | | | g |
| May & Goodner 1927 | g | g | g | g | – | – | – | g | g | g | g | – | – | – | |
| Manninger 1928 | g | + | g | + | – | ± | + | + | g | g | g | + | – | | |
| Beck & Eber 1927 | g | | g | g | – | – | – | | | | g | – | – | | |
| Klimmer & Haupt 1927 | g | | | | – | – | – | | | | | – | – | | |
| Rettger & Koser 1917 | g | g | | g | – | – | – | g | | | | – | – | – | |
| Doyle 1925 | g | | | g | – | – | | g | | | | – | – | | |
| Goldberg 1917 | g | g | | g | – | – | – | g | g | – | g | – | – | | |
| Gressel 1928 | g | | | g | – | | ± | | | | g | ± | | – | – |
| Kraus 1919 | g | g | | g | – | | | g | | – | | – | – | – | – |
| *intermedius* | | | | | | | | | | | | | | | |
| May & Goodner 1927 | + | + | + | + | – | + | + | + | + | – | + | + | – | – | |
| Beck & Eber 1927 | + | + | + | + | – | – | + | | + | + | ± | + | – | – | – |
| Klimmer & Haupt 1927 | + | | | | – | – | + | | | | | ± | – | | |
| *gallinarum* | | | | | | | | | | | | | | | |
| Beaudette 1925 | + | + | + | + | – | – | + | + | + | – | + | + | – | – | – |
| Pfeiler 1921 | + | + | + | + | – | – | + | | + | + | ± | + | – | – | – |
| Mulsow 1919 | + | | + | | | ± | + | | | + | + | + | | | ± |
| May & Goodner 1927 | + | + | + | + | – | + | + | + | + | + | + | + | | – | |
| Manninger 1928 | + | + | + | + | – | ± | + | + | + | + | + | + | – | | |
| Ehrlich 1925 | + | + | – | + | – | | ± | | | | + | | – | – | |
| Pfeiler & Hoepke 1917 | + | + | + | – | – | | – | + | + | + | – | + | – | – | – |
| Beck & Eber 1927 | + | | + | + | – | + | + | | | | + | + | – | | |
| Rettger & Koser 1917 | + | + | | + | – | + | + | + | | | | + | – | – | |
| Goldberg 1917 | + | + | | + | – | + | + | + | + | + | + | + | – | – | |
| Gressel 1928 | + | | | + | – | + | + | | | + | + | + | – | – | – |
| Klimmer & Haupt 1927 | + | | | | – | + | + | | | | | + | – | | |

*Remarks* — + fermentation without gaz; g, fermentation with gaz; —, not fermented; ±, slightly fermentation.

Further, in the works from which we extracted the data above, there are references to other less significant sugar varieties.

* *
*

Hadley, Elkins & Caldwell (1918) ascertained the existence of two types of *pullorum*, already suspected by other investigators, *A* gasogenic, which, in accordance with these AA. has a pathogenic action only for chicken, and *B*, not gasogenic, which may infect chicken and hens.

For a long time then, there was no reluctance in accepting these two fermentative types, based on the constancy and immutability of their characteristics. But their pathogenic specificity was contested by St. John Brooks & Rhodes in 1923, and by Beaudette in 1925. The first AA. have isolated the type *A*, gasogenic, from a full-grown hen: Beaudette has found the type *B*, not gasogenic, from a chick's unabsorved yolk.

This subject rouse many controversies. Doyle (1921) admits Hadley to be right, allowing this rule frequent exceptions. Edinghton's observations, published in 1924, are contradictory. In three chicken epizootics, he isolates non-gasogenic samples of *pullorum* which later became gasogenic.

We find also reference contrary to Hadley & al. assertions, in Miessner & Berge's paper (1928). They have isolated from new-born chicken not gasogenic samples of *pullorum*, and from older chicken mostly gasogenic samples.

From these references we have met with, it seems that the relations between gas-production and the pathogenic action of *pullorum* are still an open question.

In reference to the gas-forming property in itself, there is not inagreement between the actual opinions. Hadley a. al. think it is fixed, establishing the types *A* and *B*, gasogenic and not gasogenic; they are based upon their own experiments and upon those of Rettger & Koser, of Goldberg and of Rebrassier: on the other hand, Smith & Ten Broeck, Edinghton and Doyle accept the transformation of one type into another. Doyle (1921) obtained the transformation of type *B* into *A*, inoculating non-gasogenic samples in healthy chicken and obtaining from them gasogenic samples. St. John Brooks & Rhodes state the gas-production not to be of great value in the characterization of *pullorum*, because it is very variably.

According to Gressel, only 50 % of the *pullorum* samples he studied

produce gas in dextrose, and some of them produce maltose splitting and he also observed the loss of the gasogenic property by several samples.

Here we must point out that sometimes we had to repeat the fermentative tests many times, before saying a sample of *pullorum* to be gasogenic or not. To explain some results quoted, we could suppose one lowered fermentative activity, enhanced by repeated cultures or by animal-passage.

* *
*

In reference to fermentation of carbohydrates by *pullorum* there is another obscure point; it is its action upon maltose. We have said now the incapacity of *pullorum* to produce fermentation of this carbohydrate was accepted this being used at first as a differential characteristic. Indeed, all the investigators are not in accordance about this fermentative incapacity; according to some of them, this property may be lost or acquired in course of time. Mulsow (1919) was the first who called attention to the irregularities observed in fermentation of maltose by samples of *pullorum* and *gallinarum*. Among the *pullorum* strains that he studied, there was some which produced splitting of maltose; among the samples of *gallinarum*, he also observed some which produced only slow fermentation.

More confusion has resulted from the supposed potencial capacity of *pullorum*, in Spray & Doyle's (1921) experiments confirmed by Hendrickson (1927). They verified that samples which were not able to produce any alteration of this carbohydrate in common maltose fermentation media, were able to induce it after addition of serum (horse-serum) to the sugar medium. Further, they observed that gasogenic strains of *pullorum* produced gas from maltose in these conditions; they verified also that dextrin and dulcitol, usually not attacked by those bacteria, could not be influenced in presence of serum.

In their accurate comparative study published in 1927 about American and European strains of *pullorum-gallinarum*, May & Goodner point out the existence of some *pullorum* samples which produced fermentation of maltose and dextrine; they suppose that this anomaly is due to a previous unfolding of maltose in the autoclave, and also to impureties of dextrin. Recently isolated strains were seen to be more irregular than older ones in reference to this peculiarity.

Manninger and Mallmann are in accordance with May & Goodner.

as they discuss the same phenomenon observed with their samples. Mallmann has not observed fermentation of maltose by *pullorum* when he used maltose medium sterilized by filtration. Even so, he believes this sugar, like dextrin and dulcitol, not to be suitable for differentiation.

Edwards furnishes us new information in the same year, when he verifies that under the action of alkaline substances produced by *pullorum* metabolism maltose maintained at 37° unfolds itself and the resulting dextrose is easily fermented by *pullorum*. If alkalinization of the medium is hindered, fermentation of maltose is no longer observed.

Summing up the study of literature we conclude the group *pullorum-gallinarum* to have a capacity to produce fermentation of dextrose, galactose, mannose, manitol, levulose, arabinose, xylose and iso-dulcitol; with certain sugar varieties fermentation is accompanied by gas-production when attacked by *pullorum*. Lactose, sucrose, raffinose, salicin, inulin, erythrite, adonitol are not fermented. According to the greatest number of AA. *gallinarum* would produce acidification of maltose, dulcitol and dextrin, which are not generally attacked by *pullorum*.

* * *

The reference which we find in almost all the publications since 1927, about « anomalous types » exactly those which we describe now as *intermedius*, is very curious. May & Goodner find two strains of *gallinarum* which do not produce acidification of xylose, a carbohydrate which is attacked by all their strains of *pullorum* and *gallinarum*. Beck & Eber called « intermedial » (Uebergang) two strains which among several others we have included in the group *intermedius*, namely the Kü. IV and Ovar. IV, which present common characteristics with those of *pullorum* and *gallinarum*, and the frequency of which they could not ascertain. According to the above mentioned AA. these strains were at first gasogenous when they acted upon several glycides varieties, but they had not shown this property by the following tests.

Klimmer & Haupt, in 1927, studied two epizootics in chickens, and they succeed in isolating two forms of organisms, differenciated by the growth of Gassner plates. One type presented the characteristics of gasogenic *pullorum* of Rettger, although in the first test it did not produce gas. The other one never produced gas and in the course of time it began to acidify maltose, slowly at first and rapidly a little later on. Of the eight samples of this type, six produced acidification by the fourth passage through a culture medium. We can approach

this type to the « Uebergang »-type of Beck & Eber, there being only one difference respecting its latent power to produce fermentation of maltose. Klimmer & Haupt approach it from *gallinarum*, but do not identify to one another.

Also Gressel, in 1928, presented some « atypical » strains of *pullorum*.

More recently, Rochaix & Couture (1933) observed some strains supposed to be of *pullorum* that they verify to be non-gasogenic, little or not $H^2S$ producers, and inactive upon xylose; these characteristics are in accordance with those we met in the *intermedius* type.

•

To study the fermentation of sugar, we employed the culture medium which we have used for a long time in bacteriological research. It is a semi-solid agar based on nutrose. Its composition is as follows:

| | |
|---|---|
| Water | 100 cc. |
| Nutrose | 1 gr. |
| Peptone | 2 grs. |
| Sodium chloride | 0,5 grs. |
| Agar-agar | 1 gr. |

Add to this medium the glycide and Andrade's indicator (acid fuchsin decolorized by an alkali) both in the proportion of 1 %.

Acidification is estimated by the red colour of the medium, and by precipitation of nutrose when acidification is very intensive (pH 5,0); alcalinity is demonstrated by desappearance of the pink colour of the medium. According to our observations, and also those recently published by Spray, this medium is suitable for the vegetation of most bacteria.

In September 1930, we have made our first tests about carbohydrate fermentation. In this series the glycides varieties, from Pfahnstiehl Cy., were added to the medium, before sterilization at 108° C. during half an hour.

In the following tests we have modified our technical method, and sterilized the glycide separately, by uncontinuous heating at 60° C. for 30 minutes, repeated several times, or we have done it by filtration, to be in accord with Mallmann's above mentioned advice. May be the little discrepancies observed in the results are due to this modification. It is possible that another mistake had also determined the appearing

of these discrepancies. We could not always employ glycides varieties of the same origin (Pfahnstiehl) in the following experiments, and sometimes we used those manufactured by Merck or Schering (Table 9).

We have read the modifications from the first up to the 20th. day of culture at 37° C.

The fermentation tests using xylose seemed us to be very interesting, and also those using sorbitol. Although significant in the differentiation, the action on inuline and iso-dulcitol seemed to be less useful for characterisation.

In fact, sorbitol was not fermented by any sample of not gasogenic *gallinarum* and it was fermented by all the samlpes of the other four types. Xylose distinguished very well the type *intermedius*, which did not produce any alteration, with exception of the sample P 25, in which case the sugar splitting was very slow. The samples of *gallinarum* acidified inulin in a transitory manner, indeed more rapidly than the other types; iso-dulcitol was attacked more slowly by the samples of *intermedius*. No strains or type produced fermentation of dextrin observed by several investigators, denied by the great majority of them, at least in reference to *pullorum*.

All the samples of all the types produced fermentation of glycerol, about which there is no agreement in the literature.

Mannose, mannitol, galactose, levulose, arabinose and dextrose were also attacked. Inositol, salicin, sucrose, raffinose and dextrin were not fermented.

In reference to dulcitol and maltose, their fermentation clearly distinguished different types. So, dulcitol was not fermented by gasogenic or not *pullorum* strains, and it was quickly attacked by other types. We can say the same of maltose, with the only difference of the slow fermentation by the type *intermedius*, which could so be separated from the *gallinarum*.

New accurate tests were made, using maltose, sorbitol, dulcitol and inuline, and the results obtained were almost the same, with little differences of one or two days in the appearing of late fermentations. In this second verification we made also the methyl-red test, proposed by Rettger, as we have already said. There was naturally a close relationship between this test and that of maltose-fermentation.

New accurate tests were made, using maltose, sorbitol, dulcitol no relevant differences were verified in the readings. After an interval of more than one year, we began our studies again in 1932. Then, we sterilized the sugar solutions separately from the medium, by uncontinuous heatings at low temperature. It is convenient to say that, from

Table 9
Fermentation of carbohydrates (1930, Sept.).

| Strains | Mannose A | Mannose G | Glycerol A | Mannitol A | Mannitol G | Inositol N | Xylose A | Xylose K | Isodulcitol A | Isodulcitol G | Isodulcitol K | Dulcitol A | Dulcitol N | Sorbitol A | Sorbitol K | Salicin N | Maltose A | Maltose N | Galactose A | Galactose G | Inulin A | Inulin K | Raffinose N | Levulose A | Levulose G | Arabinose A | Arabinose G | Dextrin N | Glycose A | Glycose G | Lactose N | Saccharose N |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Not gazogenic *pullorum* | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| P 1 | + | | + | + | | | 1d | | 1d | | | | | 5d | 15d | — | | | + | | 5d | 10d | | + | | | | + | | | |
| G 39 | + | | + | + | | | 5d | | 1d | | | | | 15d | | — | | | + | | 5d | 10d | | + | | | | + | | | |
| Gazogenic *pullorum* | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| P 2 | + | | + | + | | | 2d | | 1d | | | | | 5d | | | | | + | | 2d | | | + | | | | + | | | |
| P 3 | + | + | + | + | + | | 2d | | 1d | | | | | + | | | | | + | + | 2d | | | + | + | | | + | | | |
| P 4 | + | + | + | + | | | 1d | 15d | 1d | + | | | | 5d | | | | | + | | 2d | | | + | | | | + | | | |
| P 5 | + | + | + | + | + | | 2d | 20d | 1d | + | | | | 5d | | | | | + | | 1d | 3d | | + | | | | + | | | |
| P 6 | + | | + | + | | | 2d | | 1d | + | | | | | — | | | | + | | 2d | | | + | | | | + | | | |
| P 8 | + | | + | + | | | 1d | | 1d | + | | | | | — | | | | + | | 1d | 10d | | + | | | | + | | | |
| P 9 | + | | + | + | | | 2d | | 1d | + | | | | + | 15d | — | | | + | | 1d | — | | + | | | | + | | | |
| P 10 | + | | + | + | | | 5d | | 2d | + | | | | + | — | | | | + | | 1d | — | | + | | | | + | | | |
| P 11 | + | | + | + | | | 1d | 10d | 1d | + | 10 | | | + | 15d | — | | | + | | 1d | 10d | | + | | | | + | | | |
| P 12 | + | | + | + | | | 1d | 10d | 1d | + | 10 | | | + | 20d | — | | | + | | 1d | — | | + | | | | + | | | |
| P 13 | + | | + | + | | | 1d | | 1d | + | | | | + | — | | | | + | | 5d | — | | + | | | | + | | | |
| P 15 | + | | + | + | | | 1d | | 1d | + | | | | + | 20d | | | | + | | 3d | 5d | | + | | | | + | | | |
| P 16 | + | | + | + | | | 1d | | 1d | + | | | | + | 15d | | | | + | | 1d | 10d | | + | | | | + | | | |
| P 17 | + | | + | + | | | 1d | | 1d | + | | | | + | 5d | | | | + | | 1d | 5d | | + | | | | + | | | |
| P 18 | + | | + | + | | | 2d | | 1d | + | | | | + | 15d | | | | + | | 2d | 5d | | + | | | | + | | | |
| P 19 | + | | + | + | | | 2d | | 1d | + | | | | + | 10d | | | | + | | 2d | 10d | | + | | | | + | | | |
| P 22 | + | | + | + | | | 3d | | 1d | + | | | | | — | | | | + | | 1d | 15d | | + | | | | + | | | |
| Gazogenic *pullorum* | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| P 7 | + | | + | + | | | 15d | | 15d | | | | | 5d | | | | | + | | 1d | 10d | | + | | | | + | | | |
| P 14 | + | | + | + | | | | | 3d | | | | | 5d | | | | | + | | 1d | 15d | | + | | | | + | | | |
| P 20 | + | | + | + | | | | | 3d | | | | | 5d | | | | | + | | 1d | 15d | | + | | | | + | | | |
| P 21 | + | | + | + | | | | | 3d | | | | | 3d | 15d | | | | + | | 1d | 15d | | + | | | | + | | | |
| P 24 | + | | + | + | | | | | 3d | | | | | 5d | 15d | | | | + | | 1d | 3d | | + | | | | + | | | |
| P 25 | + | | + | + | | | 15d | | 3d | | | | | 5d | 15d | | | | + | | 1d | 5d | | + | | | | + | | | |
| P 26 | + | | + | + | | | | | 3d | | | | | 5d | | | | | + | | 1d | 5d | | + | | | | + | | | |
| P 27 | + | | + | + | | | | | 3d | | | | | 10d | | | | | + | | 1d | | | + | | | | + | | | |

*Internedius*

| | | |

this time on, the gasogenous *gallinarum* P 28, was provisionally laid aside. Yet, we must point out that this strain of *gallinarum*, due to its fermentative characteristics, should be better considered as a gasogenic *intermedius*, in view of its influence upon Jordan's medium, (which we are going to describe later), and upon xylose and sorbitol.

The results we obtained were in general like those we have verified before, which is a proof of the non-variability of fermentative characteristics. So, xylose was always acidified by all the types, *intermedius* excepted; sorbitol remained still unattacked by *gallinarum* and was attacked by other types. We must point out a peculiarity in fermentation of this carbohydrate, in reference to gasogenic *pullorum* from one side and *intermedius* and non-gasogenic *pullorum* on the other side. In the first group fermentation is permanent; in the second, it is always hidden by alkalinization.

In relation to maltose, we could observe a more rapid acidification by the type *intermedius*, appearing now after 1-3 days. The methyl red test presented a correlate modification.

New general fermentation tests were made in May 1933, to be compared those we had made before. Dextrose, levulose, xylose, sucrose, lactose, dulcitol, manite, salicine and raffinose maintained their inicial appearance, in accord with the several types. Maltose was still rapidly acidified by *gallinarum* and more slowly, within 2-10 days, by the *intermedius* samples (Table 10).

This delay in fermentation was still made plain in the Clark & Lubs methyl-red test. It furnishes an illustration of the influence of extrinsic agents which we have observed, for example, with the samples P 24 and P 27. The former produced acidification of maltose in Schmidt's tube within 6 days, notwithstanding it was methly-red negative. P 27, on the contrary, acidifies maltose at the 10th day, and it was methyl-red positive. This test was always made using five days culture.

Glycerine was attacked more rapidly and more regularly by the *intermedius*, than by the representatives of the other types.

**Table 10**

**Maltose fermentation and VM (Clark & Lubs) texts.**

| | Days | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 6 | 10 | VM |
| Not gazogenic *pullorum* | | | | | | |
| P 1, G 39 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | — |
| Gazogenic *pullorum* | | | | | | |
| P 3, 5, 6, 9, 10, 12, 13, 22 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | — |
| *intermedius* | | | | | | |
| P 7 | a | a | a | a | n | + |
| P 14 | a | a | a | a | n | + |
| P 20 | a | a | a | a | a | |
| P 21 | 0 | a | a | n | n | + |
| P 24 | 0 | 0 | 0 | a | a | — |
| P 25, P 26 | a | a | a | a | a | + |
| P 27 | 0 | 0 | 0 | 0 | a | + |
| *gallinarum* | | | | | | |
| G 28, 29, 31, 32, 37, P 29 | a | a | a | a | a | + |
| G 30 | a | a | a | a | n | + |

*Remarks* — 0, unaltered; a, acid; n, neutral; +, positiv; −, negativ.

Some differentiation was also obtained from iso-dulcitol, taking into consideration the delay of attack (Table 11).

The two *pullorum* type acidified rapidly with subsequent alkalinization. *Intermedius* acidified more slowly, without alkalinization. The *gallinarum* strains acted very slowly.

In reference to the fermentation of sorbitol, two strains of *pullorum*, P 1 non-gasogenous and P 22, gasogenous, did not acidify in some tests, doing it initially, in 1930. The other always acidified, by a slow but definitive attack. Therefore, *pullorum* may be considered as a slow, but constant fermenter of this alcohol, as we can see in the table. A little more active was *intermedius*. *Gallinarum* never modified it in a consistent manner. It must be noted that long lasting observations are necessary, because very often acidification only appears after 15 or 30 day. It should not be forgotten also that the favourable action of sorbitol

**Table 11**

**Isodulcitol fermentation.**

| Strains | Days | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 7 | 10 |
| Not gazogenic *pullorum* | | | | | | | |
| P 1, G 39 | + | + | + | + | + | + | + |
| Gazogenic *pullorum* | | | | | | | |
| P 3, P 5, P 6, P 9, P 10, P 13, P 22 | + | g | g | g | g | + | ± |
| P 12 | g | g | g | g | g | ± | ± |
| *intermedius*: | | | | | | | |
| P 7, P 14, P 20, P 21, P 24, P 25, P 26, P 27 | − | ± | + | + | + | + | + |
| *gallinarum* | | | | | | | |
| G 28, G 29, G 30, G 31, G 32, G 37 | − | − | ± | + | + | + | ± |
| P 29 | − | − | − | ± | ± | ± | ± |

*Remarks* — +, positiv, g, acid and gaz; −, negativ; ±, slightly positiv.

for the production of daughter colonies, already mentioned. In relation to sorbitol, we have observed with the *gallinarum* sample G 29 a tendency to form secondary colonies capable of acidifying it. This was first observed in 1930, when relatings of these daughter colonies in Drigalski sorbitol media gave only the original type. In 1933 we have verified again, with this strain, the formation of red secondary colonies which now maintained this property, while incolor colonies gave again the two types. Further observations will be made about this acquired property, what could only be seen with this sample, and the P 28.

* *
*

In our long experience in which we studied the properties of this group, we could not confirm Hendrickson's, Edinghtons' and Manninger's verifications in reference to modifications of cultural properties, appearing in the course of time. Greater probabilities of being right

we find in May & Godner's observations about the pecularity of new strains, recently isolated, to have a more irregular behaviour thant more ancient strains, conserved in laboratory-media for long time. That was what we observed with the *intermedius* samples, which attacked maltose slowly, at first and more rapidly later.

Our attention was drawn to the activity of the representatives of the *pullorum-gallinarum* group upon maltose, in habitual media or in those with addition of serum.

As already stated, there is still a discordance with regard to the different value of this sugar. As it is not normally changed either by gasogenic or non-gasogenic *pullorum* types, several investigators have observed samples which deviated from this standard, in normal media and especially in media containing serum.

By virtue of the investigations already carried out with the aim to account for this anomalous action of *pullorum*, three probable causes have been ventured, of course appart from the possible presence of anomalous strains.

*a*) Thermic hydrolysis of maltose (May & Goodner, Manninger, Mallmann).

*b*) Alkaline hydrolysis of maltose (Edwards).

*c*) Exciting action of the bacterial fermentation function, in media with addition of serum (Spray & Doyle).

According to Mallmann, sterilization of media by candle filtration, avoiding the action of heat upon the sugar, suppresses the appearance of fermentation. In opposition to Mallmann, Edwards observed anomalous fermentation of *pullorum*, even in cases of maltose sterilized by candle filtration.

In the test series we carried out, sterilizations were made under varying conditions, now filtering, now sterilizing by discontinued heat at 60° C., or again by heat at 108° C. for 1 hour. The result was that there is no evidence of any thermic influence on maltose. In some experiments, we heated the sugar even up to 120° for 1 hour without noticing appearance of fermentation after having sown, later on, *pullorum* strains. By the way, in all cases in which we used habitual media without serum, no *pullorum* strain either gasogenic or non-gasogenic induced the slightest fermentation of this sugar to appear, even during a 30 days observation at 37° C.

Edwards, in order to explain his cases of anomalous fermenta-

tion, believes that the alkalinization of the medium produced by *pullorum* induces a hydrolysis of maltose; in support of his idea, he verifies that alkaline solutions of maltose with 8.06 or 8.76 pH rapidly diminuish their rotation power, and that media obtained from these solutions are rapidly fermented by *pullorum*. Thus, according to Edwards, the cycle — Alkalinization — Hydrolysis — Fermentation — is indispensable for the production of cases of anomalous fermentation by *pullorum* strains.

Taking into consideration Edward's results, it would be interesting to alkalize previously media of total culture with a strongly alkalinizing germ and inactive upon sugars, in order to make, afterwards, the biological verification of maltose hydrolysis, in filtered or heated media, by means of *pullorum* or any other germ able to produce fermentation of dextrose but not of maltose. However, we were not able, as yet, to carry out this experiment for want of an alkalinizing strain under the given conditions. But Edwards' verifications suggested the hypothesis that the absence of a late action upon maltose is due to the fact that our *pullorum* strains are not able to alkalinize cultural media. As there is no previously breaking up of maltose into glucose through the combined action of alkalinity and incubator heat, it was to be foreseen that no fermentation evidence would be observed, and indeed so it was. The results may be apreciated in table 12.

**Table 12**

pH variations in 3 o/o peptone water with addition of 1 o/o maltose Riedel esterilized by filtration. Temperature 37° C.

| *Pullorum* | Initial pH | 1 day | 2ds. | 4ds. | 5ds. | 7ds. | 9ds. | 13ds. | 18ds. | 25ds. | 37ds. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| P 1 | 6.8 | 6.4 | 6.4 | 6.5 | 6.5 | 6.7 | 6.6 | 6.6 | 6.8 | 6.8 | 6.8 |
| P 22 | 6.8 | 6.4 | 6.5 | 6.5 | 6.7 | 6.7 | 6.6 | 6.6 | 6.7 | | |

We then resolved to alkalinize artificially the culture medium up to pH 9.0 by means of a sterile sodium carbonate solution. After keeping this sterile alkaline medium in the incubator for 20 days, it was neutralized and sown with various strains of *pullorum* and of other germ species. The result, entirely negative, of this experiment may be seen in Table 13. The culture medium used was 3 % peptone water.

sterilized at 120° C. for 15 minutes and alkalinized to pH 9.0, with the addition of 2 % Riedel maltose sterilized by filtration. The indicator added was that of Andrade (Table 13).

**Table 13**

| Strain | Normal medium for fermentation test with 1o/o maltose | Medium containing 3 o/o peptone water. Hydrolyzed at 9.0 pH, during 20 days at 37o C. |
|---|---|---|
| G 39, P 2, P 3, P 4, P 5, P 6, P 8, P 9, P 12, P 13, P 16, P 18, P 19, P 22, P 1 | 0 to 25 days | 0 to 5 days |
| Dysentery bacilli Schmitz type, D 17 | 0 to 25 days | 0 to 5 days |
| Dysentery bacilli Shiga type, n. 849 | 0 to 25 days | 0 to 5 days |
| Dysentery bacilli Flexner type, n. 829-a | AA 48 hrs | AA 24 hrs |
| Dysentery bacilli Flexner type, n. 804 | A 24 hrs | AA 24 hrs |
| *Tests.* | 0 to 25 days | 0 aié 5 days |

*Remarks* — 0, unaltered; A, acid; AA, strong acid.

The contradiction existing between our verifications and those of Edwards is probably due to the fact that we subjected maltose to hydrolysis in medium of total culture, whilst Edward used a solution in alkalinized distilled water.

Therefore, taking into consideration the results obtained with our samples, during 30 days in habitual media, and the failure of our trials in obtaining a breaking up of maltose, we do not believe that anomalies or irregularities in the behaviour of the germs of *pullorum* type are frequently met with in contact with maltose, or that in media containing this sugar there are wanting sufficient conditions of stability for bacteriological work.

Spray and Doyle's initial verification on rapid maltose fermentation in media containing serum was entirely confirmed by us. All our *pullorum* strains fermented frankly in 24 hours, the majority of gazogenic *pullorum* with abundant production of gas. However, as in these experiments we had used not-heated serum, we tried new series in which serum had previously been subjected to various temperatures and also sown with other germs inactive upon maltose (Table 14).

Table 14

Influence of serum on maltose fermentation. Temperature 37o. C. Readings after 1 or 3 days.

| Strains | Maltose in habitual medium | Maltose in med. with not heated serum | Maltose with serum heated at 55o C. | Maltose with serum heated at 60o C. |
|---|---|---|---|---|
| Dysentery bacilli Shiga type, | 0 | A | A | A |
| Dysentery bacilli Shiga type, n. 793 | 0 | A | A | A |
| Dysentery bacilli Schmitz type, n. 824 | 0 | A | A | A |
| *Pullorum* P 16 | 0 | AG | AG | AG |
| Gonococcus n. 9 | 0 | A (3ds.) | A (3ds.) | A (3ds.) |
| *Pasteurella avicida*. n. 1716 | 0 | A | A | A |
| *Witness* | | | | |
| Dysentery bacilli Flexner type, n. 822 | A | A | A | A |
| *Coli* bacilli n. 489 | AG | AG | AG | AG |
| *Coli* bacilli n. 938 | AG | AG | AG | AG |

Thus, the serum heated up to 60° C. did not lose its activating power on maltose fermentation.

Another experiment, made with sample P 22, seems to indicate that a previous heating of serum above 100° C. during 30 minutes is necessary in order to destroy totally the activating action of serum (Table 15).

Table 15

Influence of high temperatures on the activating action of serum on maltose fermentation. Temperature 37o. C. Strain employed in test P. 22.

| Incubation period | Not heated serum | Serum heated at 100o C. | Serum heated at 120o C. |
|---|---|---|---|
| Days | pH | pH | pH |
| 0 | 7.3 | 7.5 | 7.5 |
| 1 | very acid | 7.2 | 7.2 |
| 2 | « | 7.1 | 7.1 |
| 3 | « | 7.1 | 7.1 |
| 4 | « | 7.1 | 7.1 |
| 6 | « | 7.2 | 7.2 |
| 7 | « | 7.2 | 7.2 |
| 9 | « | 7.2 | 7.2 |
| 11 | « | acid 7.0 | 7.3 |
| 15 | « | very acid | 7.2 |
| 20 | « | « | 7.1 |
| 27 | « | « | 7.1 |
| 41 | « | « | 7.1 |

*Remarks* — Collarimetric dosages.

This experiment indicated the probability of the maltose fermentation phenomenon being controlled by a factor existing in serum itself, most likely an enzym, able to break up maltose down to glucose, which, then, would be easily attacked by *pullorum*, as well as by all germs able to act on glucose but not on maltose as, by the way, it occurred in the experiment registered in Table 15.

The presence of a maltase in horse serum, disturbing the verifications of sugar fermentation by bacteria, has already been noticed by Ten Broeck as he was studying the fermentation power of the germs of mouse septicemia. In 1920, he verified that in media enriched with horse serum, the dysentery bacilli Shiga type appeared to be able to break up maltose, which it did not in ordinary fermentation media. We imagined to confirm Ten Broeck's verification by studying polarimetrically the deviation of maltose solution subjected to the action of serum. The polarimetric dosages were made repeatedly by Dr. Decio A. de Souza and Candido Florence to whom we are indebted for their valuable collaboration; the results are registered in two examination records, Tables 16 e 17.

**Table 16**

Record of polarimetric examination of maltose solution with horse serum, gathered a year before. Temperature 37o. C.

| | 0 Hours | 24 Hours | 48 Hours | 5th. day | 10th.day |
|---|---|---|---|---|---|
| 5 o/o serum solution, not heated | 0o 5 | 0o 4 | 0o 45 | 0o 45 | 0o 45 |
| 5 o/o serum solution with 0.025 o/o quinine hydrochloride | 0o 5 | 0o 5 | 0o 55 | 0o 5 | 0o 5 |
| 2 o/o maltose solution in physiologic water | 4o 75 | 4o 85 | 4o 75 | 4o 80 | 4o 75 |
| 2 o/o maltose solution with 5 o/o serum in physiologic water, not heated | 4o 40 | 4o 00 | 3o 90 | 2o 35 | 1o 75 |
| 2 o/o maltose solution with 5 o/o serum in physiologic water heated at 60o30m. | 4o 30 | 4o 20 | 4o 15 | 4o 05 | 3o 80 |
| Id. with serum heated at 70o (*) | 4o 25 | 4o 15 | 4o 05 | 4o 20 | 4o 15 |
| Id. with serum heated at 80o (*) | 4o 20 | 4o 00 | 4o 05 | 4o 15 | 4o 05 |
| 2 o/o maltose solution with 5 o/o not heated serum and 0.025 o/o quinine hydrochloride | 4o 30 | 4o 10 | 3o 90 | 2o 80 | 1o 70 |
| 2 o/o glucose solution with 5 o/o not heated serum | 1o 45 | 1o 45 | 1o 45 | 1o 50 | 1o 35 |

* The readings were impaired owing to opacification ensuing partial coagulation of serum due to heat.

In such a way was brought into evidence the presence in horse serum of a factor able to break up maltose, offering extraordinary resistance to heat, to oldness and the most known chemical antiferments.

Table 17

Record of a polarimetric examination of maltose solution with horse serum, gathered 3 months ago. Temperature 37°. C.

| | 0 Hours | 24 Hour. | 48 Hour. | 5 days | 10 days |
|---|---|---|---|---|---|
| 5 o/o serum sol. (') not heated | 0°,50 | 0°,50 | 0°,45 | (o) | 0,°50 |
| 5 o/o not heated serum solution with 0.025 o/o quin. hydrochlor. | 0°,55 | 0°,60 | 0°,60 | 0°,55 | 0°,60 |
| 2 o/o glucose solution | 1°,70 | 1°,70 | 1°,70 | 1°,70 | 1°,70 |
| 2 o/o glucose solution with 5 o/o not heated serum | 1°,30 | 1°,25 | 1°,30 | 1°,20 | 1°,20 |
| 2 o/o maltose solution | 4°,05 | 4°,05 | 4°,05 | 4°,05 | 4°,05 |
| 2 o/o maltose solution with 5 o/o not heated serum | 3°,60 | 3°,20 | 2°,80 | 1°,65 | (o) |
| 2 o/o maltose solution with 5 o/o fresh serum and and 0.025 o/o quin. hydrochl | 3°,60 | 3°,00 | 2°,60 | 1°,45 | 1°,20 |
| 2 o/o maltose solution with 5 o/o serum heated at 60° C. for 1 hour | 3°,60 | 3°,55 | 3°,50 | 3°,40 | 3 ,10 |
| 2 o/o maltose solution with 5 o/o serum heated at 70°. C. for 1 hour | 3°,45 | 3°,40 | (o) | (o) | (o) |

(') – In physiologic water.

(o) — Test tubes contaminated.

*Remarks* — In another experiment 0.025 o o sodium fluoride was also used as antiferment. It was not possible to observe any influence of this body on the fall of the rotation power of maltose in contact with serum.

We think proper to deduce from the bacteriological and polarimetric tests that normal or insufficiently heated serum decomposes maltose into glucose which, in its turn, is broken up by bacteria to acid or gas, in conformity with the fermentation power of every group observed.

7) *Gas production.* — This is an important character for the differentiation of the components of the group *pullorum-gallinarum*, but, as we have seen above, somewhat disputed by several investigators.

From the second half year of 1930 to the first of 1933, during almost three years, we did not observe any modification, neither appearance nor loss of the gasogenous property of any strain. Almost all the strains we could observe (35) had a long time of artificial cultivation, and they maintained the characteristics under which they have been sent to us; therefore, we may consider the gasogenic property as immutable, or at least, capable of becoming steady in artificial cultivation.

8) ***Action upon Seignette's salt (potassium sodium tartrate).*** — Three years after Jordan & Harmon's publication, on the Rochelle salt in bacterial characterization, (1928), Mallmann used potassium d-tartrate and sodium mucide in the differentiation of the bacteria of the *pullorum-gallinarum* group. His conclusions are summarized as follows:

| SALT | *pullorum* | *gallinarum* |
|---|---|---|
| Potassium d-tartrate | alcali | acid |
| Sodium mucide | acid | alcali |

We have used only Seignette's salt, and it furnished us very uniform results, which were observed from the first to the sixth day of incubation. In preparing the medium, we employed the modification which Rodrigues (1931) proposed to Jordan & Harmon's medium, suitable for the characterization of Sonne's dysentery bacilli; according to this modification, the liquid medium is covered with paraffine or vaseline.

All *pullorum* strains whether gasogenous or not, and also the *intermedius*, did not acidify this medium. All the samples of *gallinarum* acidified it from 24 to 72 hours. During three years the fermentative capacity of *gallinarum* and *intermedius* were constant. It is interesting to notice that sample P 28. has also no action upon this medium, what led us think that it would be better classified as a gasogenic *intermedius*.

Our results are in accord with those of Mallmann, reached in the same way.

* *
*

Summing up, the biological characteristics observed in the samples we have worked with could be distributed in 5 different types.

I) ***General characteristics.*** — Short, non-motile, Gram-negative rods, with rounded ends; filaments occasionally formed in liquid culture media. Isolated, but exceptionally forming a chain of few elements. In solid culture media they produce colonies which can be variable according

to the microbian type: transparent, with a smooth and shining surface, regular or dented edges. Peptone broth is turbid in an uniform manner, with, little later, a powdered sediment, dissolved by agitation. Sometimes they produce a ring; there is no production of pellicle.

They acidify slowly the litmus milk serum and the litmus milk, some samples alkalinize the medium very late. Their do not form indol, and are non-proteolitic, develloping on gelatin at 20° C. without liquefaction. They scarcely grow in potato, in an almost invisible induct. No evidence of pigment nor fluorescence. They always ferment, with or without gas-production, according to the type, dextrose, levulose, arabinose, galactose, mannitol, mannose, inuline and glycerine. On the contrary, sucrose, lactose, raffinose, salicin, inositol, are not disturbed. Isodulcitol, maltose and sorbitol were fermented by some types and are apropriate for differentiation of the types.

II) *Differential characters:*

| Culture media | Not gazogenic *pullorum* | Gazogenic *pullorum* | Gazogenic *gallinarum* ? | Not gazogenic *gallinarum* | *Intermedius* |
|---|---|---|---|---|---|
| Gassner plate colonies | Unaltered to blue | Unaltered to yellow | Yellow | Yellow | Yellow |
| Maltose-Drigalski colonies | Unaltered to blue | Unaltered to blue | Red | Red | Red |
| Neutral-red | Unaltered | Fluorescence | Unaltered | Unaltered | Fluorescence |
| $H_2S$ PRODUCTION | | | | | |
| a) gelatin "iron-peptone" | + | + | + | + | irregular − |
| b) Pacheco & Mello media : not cystinised | − | − | − | + | − |
| c) Pacheco & Mello cystinised | − | − | − | + + | − |
| FERMENTATION PROOFS | | | | | |
| a) glycerol | + irregular | + irregular | + | + irregular | + |
| b) iso-dulcitol | + 1 day | + 1 day | + 5 days | + 4 days | + 2 days |
| c) xylose | + | + | − | + | − |
| d) dulcitol | − | − | + | + | + |
| e) sorbitol | + slow | + slow | + slow | − | + slow |
| f) maltose | − | − | + | + | + |
| Gaz-formation | − | + | + | − | + |
| Tartrate | − | − | − | + | − |

## ANTIGENIC RELATIONSHIP

Since Smith and Ten Broeck in 1915 laid the foundation for the study of the antigenic relationship of the representatives of the *pullorum-gallinarum* group, numerous authors were engaged in the matter, confronting them with the majority of the representatives of *Salmonella* and *Shigella* genera. It would be too long to enumerate all these works, it being preferable to group their results in a Table, as may be seen from Table 18. We abstained from including in this Table scattered verifications which demonstrate the non-existence of any connection of serologic relationship to the species of *Shigella* genus, to *Corynebacterium pseudotuberculosis*, *Pasteurella avicida* and *Escherichia coli*.

Up to 1928 there has been well established:

*a*) that all germs of the *pullorum-gallinarum* group have the same antigenic constitution.

*b*) that there exists a very pronounced serologic relationship to *Salmonella (Eberthella) typhosa (Bacillus typhosus)*, less pronounced to *Salmonella enteritidis* and *S. paratyphi* (*B. paratyphosus* A).

This serologic relationship are quoted in Table 18.

Observations of Takaianagi, quoted by Aoki himself, still differed from this general consensus, as they were able to verify in *pullorum* germs a special antigen which only reacted upon *pullorum* sera.

Aoki's verifications have been confirmed by Takaianagi who proved them true by cross immunization of mice. Yet, Aoki's works and those of his coworkers have not been accepted by the Sub-Commission for Nomenclatura of Salmonellae, which met lately and of which Aoki himself was a member.

Kauffmann, in a long exposition on serology of *Salmonellae* published in 1931, assembles the whole *pullorum-gallinarum* group under the same designation «pullorum», giving it a definite antigenic position amongst *Salmonellae*, with the only presence of one single antigen O, by the way identical to that of *S. typhosa*. Thus, according to Kauffmann, a serum obtained from *pullorum* is entirely saturated by typhoid or enteritidis germs which possess the same antigen O. By way of compensation, it must neither be saturated nor agglutinate suspensions of *Salmonella paratyphi* (*B. paratyposus* A), of a quite different antigenic constitution in Kauffmann's scheme.

Kauffmann's discrimination comes to meet all the other investigators; still, it is not admitted integrally by the Sub-Commission for Nomenclature of Salmonellae, as Kauffmanns' *pullorum* type is subdivided in *pullorum* and *gallinarum* at the cost of purely cultural elements.

No one of the numerous investigators who were engaged in the problem tried to study separately the non-gasogenous *pullorum* type from the standpoint of its serologic relationship to the remaining types. As to the *intermedius*, irrelevant references are made in Beck & Eber's work, 1927. As to the gasogenic *gallinarum* type, there are no references in the literature, as yet. Finally, the *gallinarum* type Duisburg, brought into evidence by Kauffmann and, in our opinion, identical to that described as *intermedius*, was not studied yet serologically.

* *
*

On beginning our work of cultural characterization of our samples, we also endeavoured to base it upon serologic examinations. With sera obtained from immunized goat we carried out agglutination of all samples studied by us, as well as of others coming from the Collection of the Instituto Biologico, São Paulo, representing various species of *Salmonella* and *Shigella*. We thus prapared agglutinating sera with the strains: P 1, *pullorum* non-gasogenic; P 14, *intermedius*; G 30, *gallinarum*. *Salmonella typhosa* n.º 895 (Hopkins' strain ; *S. enteritidis* 669 (273 of Krumwiede's Coll.) ; *S. columbensis* n.º 658; *S. anatum* n.os 817 and 818, of the NTC Coll.; *S. psittacosis* received from Lewis; *Shigella paradysenteriae* var. Sonne, n.º 115, *Sh. parad.* var. Flexner, n.º 820, *Sh. parad.* var. Schmitz, n.º 844. The sera were prepared by subcutaneous inoculation into goat of live emulsions of 24 hours' cultures every 3 days, and subsequently by intravenous inoculations of cultures killed by phenol or heat (60º C.).

Apart from the aforesaid well known notions, nothing new was observed with regard to the serologic relationship amongst the germs studied. The representatives of *pullorum-gallinarum* group revealed no affinity to dysentery bacilli. There were likewise no coagglutinations either with *salmonellae* from the fowl employed by us or with *S. schottmülleri* and *S. typhi-murium (aertrycke)*. The relationship universally known between germs of the *pullorum-gallinarum* group and *Salmonella typhosa*, *S. paratyphi* and *S. enteritidis* was met with again, by us. With regard to affinities amongst the various components of the group, we deemed impossible to establish, through the results of this first test, any important serologic difference amongst them (Table 19).

**Table 18**

Serologic relationships of *pullorum-gallinarum* group.

| SERUM | STRAIN | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | *S. pullorum* | | *S. gallinarum* | | *S. typhosa* | | *S. paratyphi* | | *S. shottmülleri* | | *S. enteritidis* | | *S. suipestifer* | | *S. abortus-equi* | | *S. typhimurium* (Breslau) | | *S. suipestifer* (Newport) | | *S. suipestifer* (Stanley) | |
| | Agg. | Author | Agg. | Author | Agg. | Author | Agg. | Author | Agg. | Author | Agg. | Author | Agg. | Author | Agg. | Author | Agg. | Author | Agg. | Author | Agg. | Author |
| *Salmonella pullorum* | | | T | Reb. M | + | Reb. | + | Reb. A | 0 | A | + | Reb. M A | 0 | Reb. | 0 | x | 0 | x | 0 | A | 0 | A |
| *S. gallinarum* | + | T Reb. M | | | + | Au-thors | + | Reb. A | 0 | A | + | A M G | 0 | Reb. | + | M G | T | Mt. G | 0 | A | 0 | A |
| *S. typhosa* | + | Reb. M A | + | Au-thors | + | | + | Reb. A | 0 | A | + | Reb. A | 0 | Reb. | 0 | x | 0 | x | 0 | A | + | A |
| *S. paratyphi* | + | Reb. A | + | Au-thors | + | Reb. A | | | 0 | x | + | Reb. x | 0 | Reb. | 0 | x | 0 | x | 0 | x | 0 | x |
| *S. shottmülleri* | 0 | A | 0 | A | + | Reb. A | 0 | x | | | + ou 0 | x | + | x | + | x | + | x | + | x | + | x |
| *S. enteritidis* | 0 | Reb. M A | + | Au-thors | + | A | + | Reb. | 0 | Reb. x | | | x ? | Reb. | 0 | x | 0 | x | 0 | x | 0 | x |
| *S. suipestifer* | 0 | Au-thors | 0 | Au-thors | + | A | 0 | Reb. x | + | x | 0 | Reb. x | | | 0 | x | + | x | + | x | + | x |
| *S. abortus-equi* | 0 | M | 0 | M | 0 | x | 0 | x | + | x | 0 | x | 0 | x | | | + | x | + | x | + | x |
| *S. typhimurium* (Breslau) | 0 | A | 0 | A | + | A | 0 | x | + | x | 0 | x | + | x | + | x | | | + | x | + | x |
| *S. suipestifer* (Newport) | 0 | A | 0 | A | 0 | A | 0 | x | + | x | 0 | x | + | x | + | x | + | x | | | + | x |
| *S. suipestifer* (Stanley) | 0 | A | 0 | A | + | A | 0 | x | + | x | 0 | x | + | x | + | x | + | x | + | x | | |

*Remarks* — Takaianagi, (T) Rebrassier, (Reb.) Mulsow, (M) Matthews, (Mt) Gressel, (G) Aoki, (A) Kauffmann's schema, (x).

NOTE — Table summing the works of Takaianagi 1926, Smith & Ten Broeck 1916, Rebrassier 1926, Pfeiler & Stand fuss 1919, Mulsow 1919, Matthews 1928, Krumwiede & Conh 1917, Kraus 1919, Hadley 1919, Gresse 1927, Ehrlich 1926, Aoki 1928.

**Table 19**

Agglutinations tests with *pullorum-gallinarum* strains and related bacteria.

| Strain | SERUM | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | P 1 | P 14 | G 30 | *S. typhosa* | *S. enteritidis* |
| P 1 | 15000 | 8000 | 400 | — | 500 |
| G 39 | 15000 | 15000 | 1600 | 400 | 500 |
| P 7 | 10000 | 8000 | 800 | 1600 | 100 |
| P 14 | 15000 | 15000 | 400 | 400 | 100 |
| P 20 | 15000 | 10000 | 800 | 1600 | 200 |
| P 21 | 10000 | 6000 | 800 | 400 | 100 |
| P 24 | 15000 | 8000 | 1600 | 400 | 200 |
| P 25 | 15000 | 12500 | 800 | 800 | 200 |
| P 26 | 10000 | 4000 | 800 | 400 | 50 |
| P 27 | 7500 | 6000 | 800 | 800 | 0 |
| P 2 | 15000 | 15000 | 800 | 400 | 200 |
| P 3 | 15000 | 15000 | 1600 | — | 1000 |
| P 4 | 10000 | 4000 | 400 | 400 | 50 |
| P 5 | 15000 | 6000 | 400 | 800 | 0 |
| P 6 | 15000 | 15000 | 200 | 1600 | 1000 |
| P 8 | 15000 | 15000 | 400 | 3200 | 200 |
| P 9 | 15000 | 4000 | 200 | 400 | 100 |
| P 10 | 15000 | 15000 | 1600 | 800 | — |
| P 11 | 15000 | 8000 | 400 | 1600 | 500 |
| P 12 | 10000 | 15000 | 1600 | 400 | 1000 |
| P 13 | 12500 | 15000 | 1600 | 400 | 100 |
| P 15 | 15000 | 15000 | 1600 | 1600 | 500 |
| P 16 | 15000 | 15000 | 1600 | 800 | 200 |
| P 18 | 10000 | 15000 | 1600 | 400 | 200 |
| P 19 | 15000 | 4000 | 400 | 800 | 0 |
| P 22 | 10000 | 15000 | 1600 | 200 | 500 |
| P 29 | 5000 | 2000 | 200 | 200 | 0 |
| G 27 | 10000 | 4000 | 200 | 0 | — |
| G 28 | 15000 | 2000 | 400 | 200 | 50 |
| G 29 | 15000 | 2000 | 200 | 100 | 1000 |
| G 30 | 15000 | 4000 | 400 | 200 | — |
| G 31 | 10000 | 2000 | 400 | 0 | 0 |
| G 32 | 7500 | 2000 | 400 | 0 | — |
| G 33 | 10000 | 2000 | 100 | 400 | — |
| G 34 | 5000 | 2000 | 200 | 0 | — |
| G 36 | 10000 | 2000 | 200 | 0 | — |
| G 37 | 5000 | 2000 | 100 | 0 | 0 |
| *S. typhosa* 892 | 15000 | 15000 | 200 | 1600 | 0 |
| *S. paratyphi* 687 | 5000 | 2000 | 100 | 0 | 1000 |
| *S. enteritidis* 600 | 15000 | 4000 | 400 | 400 | 1000 |

NOTE – The sera refered to in the analyses of this paper were omitted in the table when not interesting the results.

As sera obtained in goats generally have a weak agglutinative power, the samples which in this initial test presented some serologic affinity were used to obtain serum in rabbit, the best producer of ag-

glutinins. Now we use the samples P 1 (not gasogenic *pullorum*), P 13 (gasogenic *pullorum*), P 14 (*intermedius*), G 30 and G 27 (not gasogenic *gallinarum*), P 28 (gasogenic *gallinarum*), *Salm. typhosa* n.º 895 and *S. enteritidis*. Every three days, germs killed by phenol and, afterwards, live ones were inoculated into the marginal auricular vein. In order to obtain antigen, we removed the culture slant, as suggested by Meyer and Batchelder and as used in obtaining *Pasteurella pestis* antigen. In 24 hours we thus obtained abundant vegetation of all our samples, of the non-gasogenic *pullorum* P 1, which, as we saw, grows slowly in habitual cultural media.

From Table 20, were the results obtained are registered, we may infer the perfect serologic identity amongst the various types of the *pullorum-gallinarum* group, by the side of their serologic relationship to *S. typhosa* and *S. enteritidis*.

Finally, when we were terminating our biological tests, we repeated the serologic examination of representatives of all types of the group under our study, using moreover sera obtained in rabbits lately immunized by the same aforesaid proceeding.

From the results obtained it is not possible to deduce any serologic differentiation amongst the various types of the *pullorum-gallinarum* group; a lesser agglutination of the non-gasogenic *gallinarum* strains, rather, seems to run on the account of a weaker agglutinability, as is shown by the confrontation with homologous sera. The serum obtained through the strain P 14, *intermedius*, though of a weaker agglutinating power, acted equally and differently with all samples of the group.

The serologic unity amongst all types of the group is still reinforced through the examination of the saturation tests of the agglutinins (Tables 21-27).

Two questions have not been elucidated suitably: the presence of a special antigen in the *pullorum* type seen by Aoki and his collaborators, and the affinity between the germs of this group and *S. paratyphi* (*B. paratyphosus* A). According to Kauffmann, whose scheme of serologic division of *Salmonellae* was integrally accepted by the Sub-Commission for Nomenclature of Salmonella group, there exists no serologic affinity between paratyphoid A (antigens I, II and « a ») and the *pullorum-gallinarum* group (antigen IX, singular). It may be seen, from Table above, that numerous strains of ours react, though weakly, upon the serum obtained with Kauffmann's Tunis sample, as well as emulsions of this sample are partly agglutinated in *pullorum-gallinarum* sera. In this respect, no saturation tests of agglutinins were made.

**Table 20**

| | | *Pullorum* sera gaz — | | *Pullorum* sera gaz + | *Intermedius* sera | *Gallinarum* sera gaz — | | *Gallinarum* sera gaz + | *S. typhosa* 896 sera | *S. enteritidis* sera | *S. paratyphi* sera |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | P 1 rabbits 8974 e 8976) Tit. 15000 | G 39 (rabbit 8957) Tit. 20000 | P 13 (rabbit 8956) Tit. 20000 | P 14 (rabbit 9839) Tit. 6400 | G 27 (rabbit 8965) Tit. 7500 | G 30 (rabbit 8977) Tit. 3500 | P 28 (rabbit 9840) Tit. 1200 | (rabbit 9943) Tit. 2560 | "Jena" (rabbit 9793) Tit. 2500 | "Tunis" (rabbit 9886) Tit. 640 |
| Not gazogenic *pullorum* | P 1 | 15000 | 20000 | 10000 | 320 | 10000 | 15000 | 1200 | 640 | 1600 | 640 |
| | G 39 | 15000 | 20000 | 15000 | 640 | 15000 | 10000 | 640 | 1200 | 800 | 640 |
| Gazogenic *pullorum* | P 5 | 10000 | 20000 | 5000 | 640 | 15000 | 5000 | 1200 | 640 | 800 | 640 |
| | P 10 | | | | | | | 1200 | 1200 | 1600 | 640 |
| | P 13 | 10000 | 20000 | 20000 | 640 | 5000 | 7500 | 1200 | 640 | 1600 | 640 |
| | P 22 | | | | 640 | | | 1200 | 320 | 400 | 160 |
| *Intermedius* | P 14 | 7500 | 15000 | 5000 | 3200 | 10000 | 5000 | 1600 | 1600 | 3200 | 1200 |
| | P 7 | | | | 320 | | | 640 | 1200 | 1600 | 640 |
| | P 21 | | | | 320 | | | 1200 | 320 | 1600 | 640 |
| | P 27 | | | | 640 | | | 2500 | 320 | 1600 | 320 |
| *Gallinarum* | G 27 | 2000 | 5000 | 3500 | 320 | 7500 | 3500 | 1200 | 320 | 1600 | 320 |
| | G 30 | 3500 | 15000 | 5000 | 640 | 7500 | 3500 | 1200 | 640 | 1600 | 640 |
| | G 31 | | | | 160 | | | 640 | 320 | 1600 | 320 |
| | G 37 | | | | 160 | | | 1200 | 640 | 800 | 640 |
| Gazogenic *gallinarum*? | P 28 | 20000 | 20000 | 10000 | 1600 | 10000 | 7500 | 1600 | 1600 | 3200 | 1600 |
| *S. typhosa* | 896 | 3500 | 3500 | 1000 | 320 | 7500 | 5000 | 320 | 2560 | 640 | 160 |
| *Gonococcus* | 669 | 7500 | 5000 | 5000 | 1200 | 5000 | 3500 | 1200 | 1200 | 3200 | 80 |
| *S. paratyphi* | | 1000 | 500 | 200 | 0 | 200 | 500 | 200 | 20 | 40 | 2500 |

**Table 21**

Agglutinant serum P 1 (not gazogenic *pullorum*). Rabbit 8976. Potency 1/15000.

| | ABSORBED BY | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Tested with | gaz *pullorum* | gaz + *pullorum* | *intermedius* | gaz — *gallinarum* | | gaz + *gallinarum* |
| | P 1 | P 13 | P 14 | G 27 | G 30 | P 28 |
| P 1 | — | — | — | — | — | — |
| G 39 | — | — | | | — | — |
| P 13 | | | — | — | — | — |
| P 14 | | — | | — | | — |
| G 27 | | | — | — | | |
| G 30 | — | — | — | — | + 1/100 | — |
| P 28 | — | — | — | — | — | — |

**Table 22**

Agglutinant serum G 30 (*gallinarum*). Rabbit 8977. Potency 1/5000

| | ABSORBED BY | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Tested with | gaz — *pullorum* | gaz + *pullorum* | *intermedius* | gaz — *gallinarum* | | gaz + *gallinarum* |
| | P 1 | P 13 | P 14 | G 27 | G 30 | P 28 |
| P 1 | — | — | — | — | — | — |
| G 39 | — | — | — | — | | — |
| P 12 | — | — | + 1/25 | — | — | — |
| P 14 | — | | — | — | | — |
| G 27 | — | — | — | — | — | — |
| G 30 | — | — | — | | + 1/200 | |
| P 28 | — | — | — | — | | — |

**Table 23**

Agglutinant serum P 13 (gazogenic *pullorum*). Rabbit 8956. Potency 1/20000.

| | ABSORBED BY | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Tested with | gaz *pullorum* | | gaz + *pullorum* | *intermedius* | gaz — *gallinarum* | | gaz + *gallinarum* |
| | P 1 | G 39 | P 13 | P 14 | G 27 | G 30 | P 28 |
| P 1 | — | — | — | — | — | — | — |
| G 39 | | | — | | — | | |
| P 13 | — | — | — | — | — | | + 1/100 |
| P 14 | — | — | — | — | — | | — |
| G 27 | | | — | — | — | — | — |
| G 30 | — | — | — | — | — | — | — |
| P 28 | — | — | — | — | — | — | — |

**Table 24**

Agglutinant serum G 27 (*gallinarum*). Rabbit 8968. Potency 1 / 7500

| Tested with | ABSORBED BY | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | gaz — *pullorum* | | gaz + *pullorum* | *intermedius* | gaz — *gallinarum* | | gaz + *gallinarum* |
| | P 1 | G 39 | P 13 | P 14 | G 27 | G 30 | P 28 |
| P 1 | — | — | — | — | — | — | — |
| G 39 | — | — | — | — | — | — | — |
| P 14 | — | — | — | — | — | — | — |
| P 13 | — | — | — | — | — | — | — |
| G 27 | — | — | — | — | — | — | — |
| G 30 | — | — | — | — | — | — | — |
| P 28 | — | — | — | — | — | — | — |

**Table 25**

Agglutinant serum P 28 + (gazogenic *gallinarum*?). Rabbit 7321. Potency 1/2000.

| Tested with | ABSORBED BY | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | gaz — *pullorum* | | gaz + *pullorum* | *intermedius* | gaz — *gallinarum* | gaz + *gallinarum* |
| | P 1 | G 39 | P 13 | P 14 | G 27 | P 28 |
| P 1 | — | — | — | — | — | — |
| G 39 | — | — | — | — | — | — |
| P 13 | — | — | — | — | — | — |
| P 14 | — | — | — | — | — | — |
| G 27 | — | — | — | — | — | — |
| G 30 | — | — | — | — | — | — |
| P 28 | + 1/200 | + 1/200 | + 1/200 | + 1/800 | + 1/1600 | — |

**Table 26**

Agglutinant serum P 14 (*intermedius*).

| Tested with | ABSORBED BY | | |
|---|---|---|---|
| | gaz — *pullorum* | gaz — *gallinarum* | gaz + *gallinarum* |
| | G 39 | G 30 | P 28 |
| P 1 | | — | — |
| G 39 | — | — | |
| P 13 | — | — | — |
| P 14 | — | + 1/20 | — |
| G 30 | — | — | — |
| P 28 | — | — | — |

**Table 27**

Agglutinant serum G 39 (not gazogenic *pullorum*). Rabbit 8975. Potency 1/20000.

| Tested with | ABSORBED BY | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | gaz — *pullorum* | | gaz + *pullorum* | *intermedius* | gaz — *gallinarum* | | gaz + *gallinarum* |
| | P 1 | G 39 | P 13 | P 14 | G 27 | G 30 | P 28 |
| P 1 | — | — | — | — | — | — | — |
| G 39 | — | — | — | — | — | + 1/100 | — |
| P 13 | — | — | — | — | — | — | — |
| P 14 | — | — | — | — | — | — | — |
| G 27 | — | — | — | — | — | — | — |
| G 30 | — | — | — | — | — | 1/400 | — |
| P 28 | — | — | — | — | — | — | — |

On the other hand, on the strength of the absolute antigenic identity observed in our samples including all types of the group, no special antigenic structure, in our opinion, is likely to exist in the *pullorum* types.

## SUMMARY

Thirty eight strains of microorganisms of the *pullorum-gallinarum* group, of European, American or Brazilian origin were investigated bacteriologically in order to ascertain as to the fixity of their properties and the possibility of transforming a strain in another.

*a*) Five types could be distinguished in our strains: 1 — gasogenic *pullorum*; 2 — non-gasogenic *pullorum*; 3 — *intermedius*; 4 — gasogenic *gallinarum?*; 5 — non-gasogenic *gallinarum*. The first, two and fifth types are well known and recognized by specialists; the fourth group has been recognized by Beck & Eber, in 1920; the third group was recognized by ourselves, in 1935.

*b*) The table found in this paper summarizes the most important characteristics of these five types. The changes produced on neutral red, $H^2S$ production, fermentation of glycerol, isodulcitol, xylose, dulcite, sorbitol and maltose, the activity upon Seignette salt, gas production and appearance of the colonies, are among the characteristics on which the distinction of these five types is founded.

*c*) The gasogenic *gallinarum* type, on account of its action on

sorbitol and xylose, and also on Jordan's medium, must be rather considered as a gasogenic *intermedius* type.

*d*) Other biological characteristics, such as activity upon milk, milk-whey, dextrin, etc., accepted by several specialists, appeared as of no practical value to the distinction of the different types of our strains.

*e*) The strains kept their properties invariable during all the time of our investigations. The hypothesis of a possible transformation of one type into another has not been confirmed in any of the studied strains and this justifies the idea of independence of each one of the accepted types.

*f*) Some discrepances in fermentation of maltose as found by several authors in microorganisms of this group, have been not confirmed in this paper.

*g*) In blood horse serum a factor capable of transforming maltose was found making it fermentative. This substance is thermostable and resistent to some antidiastatic substances.

*h*) The serological analysis of the studied strains did not allow a antigenic distinction among the different types of the bacterial group.

# Um methodo de coloração cytologica pela hemateina ferrea *

por

Gilberto de Freitas

Dado o valor fundamental do methodo de Heidenhain como coloração cytologica, numerosas modificações lhe foram introduzidas com o fim de livral-o dos defeitos que apresenta.

É assim que, no methodo original de Heidenhain, os melhores resultados, mesmo para coloração da chromatina, são obtidos após longa permanencia do material em soluções aquosas do mordente e do corante; isto além de tornar o methodo longo na sua applicação, causa, como refere Dobell, uma maceração das estructuras.

Entre essas modificações salientam-se as de Dobell e a de Kofoid e Swezy. Infelizmente, se ellas supplantam o methodo original na rapidez ou na conservação das estructuras, não garantem a constancia resultados ou a generalisação de applicação. Se a primeira não fornece bons resultados na coloração dos cystos dos Protozoarios, a perfeição da segunda modificação depende muito da natureza do material.

Baseados em certos factos relacionados com a coloração pela hemateina ferrea, iniciamos um estudo com o fito de trazer algumas contribuições para este problema.

Iniciado quando o nosso grande mestre Prof. Carlos Chagas erá ainda vivo, d'elle recebemos todo apoio moral e technico, e a elle consagramos a nossa profunda gratidão. Cumpre-nos agradecer, tambem, aos Drs. Eurico Villela, Aristides Marques da Cunha e Olympio da Fonseca pelo generoso interesse e valiosa critica. Agradecemos igualmente ao Dr. Carneiro Felippe, pelos esclarecimentos que nos proporcionou nas questões de Chimica physica relacionadas com as colorações cytologicas.

—— • ——

A analyse do effeito das variações na concentração e no pH das soluções, mostra uma perfeita analogia entre as colorações pela hemateina ferrea e os processos de adsorpção.

* Recebido para publicação a 23 de Dezembro de 1935 e dado a publicidade em Setembro de 1936.

A natureza adsorptiva das colorações histologicas, já foi de ha muito declarada por A. Fischer. Sem adoptarmos integralmente esta theoria que parece prejudicada pela generalização, nos limitamos a acceital-a neste caso particular, e como uma hypothese apenas. Passamos então a admittir os phenomenos de adsorpção como determinantes das colorações pela hemateina ferrea, assim se explicando o respeito á equação de Freundlich, e o notavel eclectismo corante d'esta substancia. Se tal hypothese não poude ser demonstrada em virtude da impossibilidade technica de se excluir a idéa de uma reacção isothermica, ella comtudo se mostrou valiosa na sua applicação pratica, permittindo a realisação de um methodo que em nossas mãos tem dado resultados integralmente satisfactorios. Respeitando a equação de Freundlich, usamos soluções muito diluidas do corante e do mordente, tendo as soluções alcoolicas se mostrado superiores ás aquosas.

Verificamos ter singular importancia o pH da solução corante. Aliás, já de ha muito, Breinl e Rosenbuch aconselhavam empiricamente a addição de carbonato de lithio ás soluções alcoolicas de hematoxylina, realisando um methodo rapido de coloração. Este processo, que éra preconisado para Trypanosomideos e outros organismos de dimensões exiguas, dava resultados inconstantes em virtude da impossibilidade de avaliação da quantidade optima de alcali a ser addicionada. A importancia da concentração em iontes hydrogenio nas colorações pela hemateina ferrea, já havia sido salientada por Oliveira-Castro. Este autor prepara suas soluções segundo a formula original de Heidenhain, substituindo a agua pelo systema regulador phosphato monopotassico-phosphato disodico com o pH igual a 7. Preparada a solução, elle junta phenol na proporção de 0.5 %. Facto interessante e inexplicavel, a solução pode ser usada 24 horas depois; conserva-se durante um mez.

A experiencia nos demonstrou que, dentro de um certo limite, quanto mais se progride na alcalinidade, mais perfeita é a coloração das estructuras peripphericas dos Protozoarios, com prejuizo para aquellas que estão internamente situadas. Taes factos apresentaram-se particularmente demonstrativos; em *Cyathodinium conicum*, a coloração pelo methodo a seguir descripto, mostrava, quando o pH da solução de de hemateina era igual a 7.9, um effeito simulando o aspecto obtido com as impregnações metallicas pelo methodo de Da Fano. Taes verificações demonstram como uma simples variação no pH das soluções pode ser a causa de mudanças fundamentaes na actividade corante da hemateina.

O conhecimentos de tal influencia, nos induzio á necessidade de introduzir o emprego de soluções reguladoras, para que o trabalho se

processe sempre em condições identicas. Inicialmente, nós usamos o systema phosphato monopotassico-soda M/5. Actualmente porém, segundo uma suggestão do Dr. Carneiro Felippe, trabalhamos com uma solução a 1 % de phosphato di-potassico cujo pH é levado ao valor de 7.6 com acido chlorhydrico N/I; realizamos esta operação no momento do emprego. Como indicator, o vermelho de phenol fornece bons resultados, dispensando o uso de comparadores desde que se tenha alguma pratica da sua tonalidade nesta zona da escala. Embora de extrema simplicidade, é este methodo sufficientemente preciso.

Na differenciação, os melhores resultados. foram obtidos com o acido picrico em solução no alcool a 95 %. Introduzida como differenciadora após o methodo de Heidenhain por Masson, foi esta substancia preconisada por varios autores para o mesmo fim (Tuan, 1930, Nelson, 1934).

O mechanismo é ainda desconhecido. Aqui a tensioactividade desta substancia, não deve ser a causa primordial da differenciação, por isso que sua propriedade descorante é directamente proporcional á concentração. É certo que em solução aquosa o acido picrico apresenta uma forte dissociação, a qual lhe confere uma acidez capaz de decompor carbonatos; assim sendo, é provavel que esta acidez determine a differenciação, sendo conhecida a actividade descorante das soluções acidas. Soluções de acido chlorhydrico já foram empregadas por alguns autores como Dobell (1914), Cunha e Muniz (1930).

Menos provavel é que deste modo se passe a differenciação com a solução fortemente alcoolica; ahi processos outros parecem se affectuar, em virtude da fraca dissociação do acido picrico em alcool a 95 %. A idéa de que neste caso predominam processos de substituição, não sesia, pelo menos a primeira vista, despresivel. Esta hypothese é corroborada pelo facto de ser o acido picrico, como um phenol, capaz de formar lacas com os saes ferricos. Ainda um outro facto que falla em favor de tal hypothese, é o da propriedade descorante de outros phenóes como o resorcinol e o pyrogallol.

O methodo que apresentamos se effectua do seguinte modo:

A) Fixação: — Este methodo já foi applicado após os seguintes fixadores: Sublimado-alcool de Schaudinn, sublimado-alcool segundo a modificação de Wenrich, sublimado — acido acetico, Zenker, Zenker-Helly e picroformol de Bouin. Destes salientou-se o de Bouin, pelos seus effeitos beneficos sobre a coloração.

B) Após lavagem indicada para o fixador, o material é posto no mordente.

C) Collocar durante 1 hora o material numa solução de alumem de ferro a 0,5 % no alcool a 70 %. Esta solução, que deve ser confeccionada no momento do emprego, prepara-se do seguinte modo: Dissolve-se 0,5 gr. de alume de ferro em 30 cc. de agua distillada, e junta-se, agitando, 70 cc. de alcool absoluto. Por vezes, a solução apresenta no momento em que está sendo preparada, um aspecto opalescente que logo desapparece com a perfeita mistura dos dois liquidos. É inutil salientar a absoluta necessidade da pureza do alume, que deve se apresentar em crystaes grandes e violetas. Esta solução entretanto não se conserva.

D) Corar, durante uma hora na seguinte solução:

| | |
|---|---|
| Hemateina em solução a 1 % no alcool a 70 % | 2 partes |
| Solução reguladora com pH 7,6 | 1 parte |

Usamos a hemateina fornecida por Merck ou pelo Dr. Hollborn.

A respeito da solução reguladora, já informamos no decorrer do trabalho; deve ser ella preparada no momento do emprego, o que facilmente se leva a cabo, juntando gotta a gotta a solução N/1 de acido chlorhydrico sobre a de phosphato di-sodico contida num tubo de ensaio. A solução de hemateina conserva-se indefinidamente.
Em virtude dos factos relativos á influencia do pH, acima mencionados, tencionavamos preconisar a coloração em duas zonas differentes da escala de pH, conforme se desejasse uma coloração das estructuras peripherica ou profundas do material. O trabalho com o ph 7,6 nos convenceu da desnecessidade de tal complicação, por isso que esta concentração ionica já nos permitte obter uma boa coloração de ambas estructuras. Uma excepção deve ser feita, na coloração das formas cysticas dos protozoarios, que deve ser realisada com pH = 7. De qualquer modo, conhecedor do sentido desta influencia, poderá o technico escolher o pH que mais lhe convier.

E) Após a coloração, lavar o preparado na agua da bica, e differenciar numa solução saturada de acido picrico no alcool a 95 %, diluida em 1 ou 2 volumes de alcool a 95 %, de accordo com o material. Usamos a solução diluida na proporção de 1:1, quando trabalhamos com ciliados ou outros organismos de maior talhe. A diluição de 1:2, nós a empregamos nos flagellados, rhizopodes e outros organismos menores. Para os cortes, nos quaes o methodo dá o mesmo resultado, a diluição é de 1:2. Insistimos na pureza

do acido picrico para obtenção de bons resultados: usamos o acido picrico «puro» ou purissimo de Merck. Logo após o contacto com o differenciador, o preparado começa a desprender corante: para controlar a differenciação, retira-se o preparado do differenciador e immerge-se em agua da bica, onde elle retoma rapidamente a cor azul-negra. Se a differenciação desejada ainda não foi attingida, leva-se novamente o preparado ao differenciador, após se ter inclinado a lamina ou laminula sobre um papel de filtro para livral-a o mais possivel da agua.

F) Após a differenciação, lavar cuidadosamente o preparado n'agua corrente, para eliminar o acido picrico; essa lavagem póde ser de alguns minutos apenas, pois o acido picrico se desprende com relativa facilidade.

G) Deshydratar, clarear no xylol e montar no balsamo do Canadá. Como clarificador, póde tambem ser usado o terpineol, alcool benzylico ou mesmo a essencia de madeira de cedro; nesta porém, os preparados não deverão permanecer por muitos dias, sendo necessario laval-os com xylol. Referimos esses factos, porque o uso destas essencias é extremamente commodo.

O methodo que acabamos de apresentar, supera o methodo original de Heidenhain na rapidez e na pureza de coloração, possuindo a mesma susceptibilidade de applicação. O facto foi comprovado em organismos uni- ou pluricellulares, vegetaes ou animaes. Excepção deve ser feita para os componentes cellulares de natureza lipoide, para os quaes a efficiencia do methodo somente poderá ser restabelecida após numerosas verificações, dada a heterogeneidade do comportamento de taes componentes.

É além do mais um methodo cujo determinismo é sufficientemente bem estabelecido para permittir ao technico o conhecimento da causa de qualquer discrepancia nos resultados, e consequentemente, prevenil-as.

## BIBLIOGRAPHIA CITADA.

## LITERATURE CITED

CUNHA, A. M. & MUNIZ, J.

1930. Do phenomeno de endomixis em ciliados do genero Balantidium. Mem. Inst. O. Cruz, **23**.

DOBELL, C.

1914. Cytological studies on three species of Amoeba — A. lacertae, Hartmann, A. glebae n. sp., A. fluvialis n. sp. Arch. f. Protistenk., **34**.

KOFOID, C. A. & SWEZY, O.

1915. Mitosis and multiple fission in trichomonad flagellates. Proc. Amer. Acad. Arts. and Sciences, **51**.

LANGERON, M.

1934. Précis de Microscopie. 5.ª ed.

NELSON, E. C.

1934. Observations and experiments on conjugation of the Balantidium from the chimpanzee. Am. J. Hyg., **20** (1).

TUAM, H. C.

1930. Picric acid as a destaining for iron-haematoxylin. Stain Technol., **5**

# A method of cytological staining by iron-hematein *

by

Gilberto de Freitas

Many modifications were introduced into the method of Heidenhain on account of its fundamental value as a cytological staining and in order to exclude its defects. In the original Heidenhain's method the best results are obtained, even for chromatin staining, after a long maintainance of the material in aqueous solutions of the mordant and stain; this, beside requiring a longer time for its application, causes, according to Dobell, a maceration of the structures.

Among these modifications are to be mentioned those of Dobell and that of Kofoid and Swezy. Unfortunately, if they are superior to the original method by their swiftness or preservation of the structures, they don't guarantee constant results or generalisation of application. The first doesn't give good results in the staining of protozoan cyst and the perfection of the second modification depends very much upon the material.

Based on a few facts relating to the staining activity of iron-hematein, we began a study intending to make a small contribution to this problem.

We began it when the great scientist Prof. Carlos Chagas was still alive. He gave us all his moral and technical support, and we here acknowledge the help we received from him. We have to express, also, our best thanks to Drs. Eurico Villela, Aristides Marques da Cunha e Olympio da Fonseca for constant assistance and helpful criticism. Our thanks are equally extensive to Dr. Carneiro Felippe, for the explanations he gave us in matters of Physical-chemistry related to the cytological stainings.

—— • ——

The analysis of the effect of variations in the title and pH of the solutions shows a perfect analogy between action of hematein and adsorption processes.

The adsorptive nature of histological stainings was shown, a long time ago, by A. Fischer. Without adopting it entirely, since it seemed us

* The author is indebted to Dr. Alexandre Leal, for his kindness in translating this article.

to general, we have accepted it, in this particular case, but only as a hypothesis.

We proceed to admit the adsorption phenomena as a determinative of the stainings by iron hematein. Thereby, the compliance with Freundlich's equation, and the remarkable staining eclecticism of this substance are explained. This hypothesis was not demonstrated, due to the technical impossibility of excluding the case of an isothermic reaction, but it has proved itself valuable in its practical applications, allowing the development of a method the results of which have been very good.

In accordance with Freundlich's equation, we have employed highly diluted solutions of mordant and staining. The alcoolic solutions have shown themselves superior to the aqueous.

We verified that pH of staining solution is greatly important. It is true that Breinl and Rosenbusch advised empirically, a long time ago, the addition of lithium carbonate to alcoolic solutions at 1 % of hematoxylin, thereby obtaining a rapid method. This process, which was recommended for trypanosomes and other very small organisms, gave inconstant results, on accont of the impossibility of determining the quantity of alcali to be added. The importance of the H-ion concentration in stainings by iron-hematein has already been evidenced by G. de Oliveira Castro. This authors prepares his solutions, as in the original Heidenhains' formula, by using the buffer solution $Na_2HPO_4 - KH_2PO_4$ (pH = 7), instead of water. After preparing the solution, he adds phenol in proportion of 0,5 %. No explanation has been given for the fact of the solution being ready for use after 24 hours: it keeps itself unaltered for one month.

Experience has shown us that, within a certain limit, the greater the alcalinity, the more perfect is the staining of the peripheric structures of the protozoa, with a detriment for those situated internally. These facts were remarkably brought out in the case of *Cyathodinium conicum*, a ciliate from the coecum of *Cavia aperea*. The results produced by the method we are going to describe, showed, when the pH of the hematein solution, was equal to 7.9, an effect like the aspect obtained with Da Fano's method. This demonstrates that a small variation in the pH of the solutions, is able to change fundamentally the staining activity of hematein.

This fact led us to the necessity of introducing the employment of a regulator solution, so that the work may be always realized under identical conditions. Formerly we have used the buffer system $KH_2PO_4$ - NaOH with pH = 7.6, having as indicator the bromothymol blue. In accordance with a suggestion from Dr. Felippe, we use now a solution

of dipotassic phosphate ($K_2HPO_4$) adjusted to pH 7,6, at the moment of employment, with a N/1 solution of hydrochloric acid; as indicator we employ the phenol red, which works well in this zone of the pH scale. This method is extremely simple and it is sufficiently accurate, when the experimenter has a little practice of indicator tonality in this H-ion concentration.

In the decolorization the best results were obtained with the picric acid in solution in alcohol at 95 %. Introduced by Masson as differenciator after the method of Heidenhain, this substance was recommended by several other authors (Tuan 1930, Nelson 1914).

The mechanism of its action, is still unknown. Tensio-activity of this substance can not be the chief cause of differentiation, because its destaining property is directly proportional to the concentration. Picric acid presents, in aqueous solution an accentuated dissociation, which affords an acidity able to decompose carbonates; therefore, it is probable that this determinates the differentiation, since the destaining activity of acid solutions is well known. Solutions of hydrochloric acid were employed as destainings by some authors, as Dobell, Cunha and Muniz, 1930.

It is less probable that in concentrated alcoholic solutions the differentiation is produced by the above activity; it seems that in this case other processes are in action, on account of the small dissociation of picric acid in alcohol at 95 %. The assumption, in this case, of prevailing substituting processes, would not be out of place, at first sight at least. This hypothesis is strengthened by the fact of picric acid, as a phenol, being able to form lakes with iron salts; furthermore, other phenols such as pyrogallol, ressorcinol are provided with some destaining propriety, although they are cytologically useless.

The method we present is the following: —

A) Fixation. — The present method has been already employed after the following fixatives: Schaudinn's sublimate alcohol, (with or without acetic acid), sublimate alcohol after Wenrich, sublimate acetic acid, Zenker's, Helly's and Bouin's fluid; this last one has proved itself the best, on account of its effects upon staining.

B) After the washing indicated for the fixative employed, the material is put into the mordant (0,5 % solution of iron alum in alcohol at 70 %), during 1 hour. This solution, which should be made just before use, is prepared as follows: — 0,5 gr. of iron alum are dissolved in 30 cc. of distilled water, and 70 cc. of absolute alcohol are added, the mixture being then shaken. Sometimes, the solution

presents, when it is being prepared, an opalescent aspect which disappears when the two fluids are perfectly mixed. We believe it unnecessary to emphasize that the alum must be pure and present itself under big crystals, violet in colour. This solution, however, does not preserve itself in good conditions for more than 48 hours.

C) Stain, during an hour, in the following solution:—

| | |
|---|---|
| Hematein (1 % solution in 70 % ethylic alcohol) | 2 parts |
| Buffer solution (pH = 7,6) | 1 part |

We employ hematein furnished by Merck or Dr. Hollborn.

About the regulator solution we have already written in the previous pages. On account of the influence of pH, we intended to preconize the staining in two different zones of the scale, whether a staining of peripheric structures, or these deep in the material, were wished. We are sure that this complication is unnecessary by working with pH 7,6, as this H-ion concentration enables us to obtain a good staining of both structures. An exception must be made in the staining of the cysts of protozoa, which must be accomplished with pH = 7. However, the experimenter, knowing the influence of this factor, will choose the most convenient pH.

D) After staining, wash the material in tap-water, and destain in a satured solution of picric acid in alcohol at 95 %, diluted in 1 or 2 volumes of alcohol at the same concentration, according to the material. We make use of a solution diluted in proportion of 1:1, when we work with ciliates or other larger organisms; 1:2 solution is employed for flagellates, rhizopods and other little organisms. For sections the dilution is 1:2, the method giving the same good results. Picric acid must be pure, and we use Merck's « purum » or « purissimum » picric acid.

In order to control the decolorisation, the material is taken from the differenciator and immersed in tap water, where it regains its dark blue colour. In case the wished differenciation is not obtained, the object must be put again in the destaining solution, after the slide or cover glass having been inclined on a filter paper, in order to exclude the excess of water.

E) Wash carefully the material, after differenciation, in tap water for eliminating picric acid; this washing should be relatively rapid, since picric acid escapes very easily.

F) Dehydrate in alcohol, clear in xylol and mount in balsam. As clear-

ing agent terpineol, benzylic alcohol and cedarwood oil may also be used; in this last one, the object must not stay a long time, and must be afterwards washed in xylol. We refer to these facts because the employment of these oils is extremely convenient.

The method we have just exposed, has the advantage over the original Heidenhain's method of the rapidity and pureness of stain. These facts were confirmed in plant and animal unicellular or pluricellular organisms.

An exception must be made, respecting the cellular components of lipoid nature, for which the suitability of the method can only be established after many verifications, on account of the heterogeneity of the behaviour of such components.

Furthermore, it is a method whose determinism is sufficiently established, enabling the experimenter to know the cause of any discrepances in the results, and therefore to prevent them.

Typ. do Instituto Oswaldo Cruz — Rio de Janeiro — Brasil.